Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg an der Lahn
(Direktor: Prof. Dr. F. Linneweh)

Dünnschichtchromatographie im Urin zur Zuckerbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Brigitte Schwindt
aus Siegen

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg an der Lahn
(Direktor: Prof. Dr. F. Linneweh)

Dünnschichtchromatographie im Urin zur Zuckerbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Brigitte Schwindt
aus Siegen

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 16.7.1968

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr.med. R. Siegert

Referent: Prof. Dr.med. H. Bickel

Correferent: Prof. Dr.med. G. Martini

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
I.	Die Bedeutung der Melliturien für die Klinik	5
	A. Glukosurie	5
	B. Galaktosurie	18
	C. Laktosurie	21
	D. Saccharosurie	21
	E. Fruktosurie	22
	F. Pentosurie	24
	G. Verschiedene Formen kombinierter Melliturien	26
II.	Methoden zum Zuckernachweis im Urin	27
	1. Reduktionsproben	28
	2. Gärproben	29
	3. Gewisse Farbreaktionen und die Bildung schwerlöslicher Produkte	29
	4. Papierchromatographie	30
	5. Dünnschichtchromatographie	32
III.	Zweck der vorliegenden Untersuchung	39
IV.	Eigene Methodik	42
	1. Reine Zuckerläufe	44
	2. Trennung von Zuckern im Urin	47
V.	Die physiologische Zuckerausscheidung im Kindesalter (eigene Ergebnisse)	51
VI.	Pathologische Melliturien (eigene Ergebnisse)	53
VII.	Vergleich der eigenen Befunde mit der Literatur	64
VIII.	Zusammenfassung	66
	Literaturverzeichnis	69

I. Die Bedeutung der Melliturien für die Klinik.

Unter Melliturien allgemein versteht man die Ausscheidung bestimmter Zucker im Urin. Außer Laktose können Galaktose, Fruktose, Saccharose, Pentosen (d-Xylose und Arabinose) sowie Glukose im Urin vorhanden sein. Nach den einzelnen Zuckern benennt man von Laktosurie, Galaktosurie, Fruktosurie, Saccharosurie, Pentosurie und endlich von den verschiedenen Formen der Glukosurie, deren Erkennung und differentialdiagnostische Abgrenzung gegenüber anderen klinisch ähnlichen Krankheitsbildern aus therapeutischen Gründen eine große Bedeutung zukommt.

A. Glukosurie:

Die Glukose, so glaubte man bis in jüngste Zeit, sei das einzige Saccharid, das in den Nieren unter physiologischen Verhältnissen 100-ig rückresorbiert würde. Erst wenn die angebotene Menge die Toleranzgrenze oder das Transportmaximum (T_m) der Niere überschreitet, würde der Überschuß nicht rückresorbiert, sondern sezerniert. Für Glukose beträgt das Transportmaximum 320 mg pro Minute. Da pro Minute 125 cm^3 primärer Urin ultrafiltriert werden, wird das Transportmaximum der Glukose bereits bei einem Blutzucker von $\frac{320 \cdot 100}{125}$ = 250 mg% erreicht. Die Clearance der Glukose ist also unterhalb der Nierenschwelle von 250 mg% Blutzucker = 0. Das hieße, sämtliche Glukose würde rückresorbiert und kein cm^3 Plasma von Glukose "gereinigt" (22). Der Mechanismus der Glukoserückresorption ist aber vielfältig. Neben dem Zusammen-

spiel von Blutzuckerkonzentration im arteriellen Blut, Glomerulusfiltration, Nierendurchblutung und tubulärer Rückresorptionsfähigkeit besteht eine Abhängigkeit von der Geschwindigkeit der Darmresorption, der Art der Ernährung oder vorausgegangenen Diät, eventuellen Hungerzuständen sowie von zentralnervösen und hormonellen Faktoren (63). Die Auffassung, daß es erst zu einer Glukoseausscheidung im Urin kommt, wenn der Blutzuckergrenzwert, der zwischen 160 - 250 mg% liegt, überschritten wird, ist heute durch die Kenntnis dieses komplexen, funktionellen Systems verlassen worden. BICKEL (7) konnte Glukose im Urin Gesunder nachweisen, die eine Konzentration von 15 mg% nicht übersteigt. Auch RENSCHLER (70) gibt die Grenze der Normalverteilung bei 15 mg% an, und als oberste Grenze gibt er bei der Untersuchung von 159 Urinen einen normalen Glukosegehalt von 30 mg% an. Die am häufigsten vorkommende Konzentration liegt bei 8 - 9 mg%. Die Hälfte der untersuchten Urine hatte eine Konzentration von 7,5 mg%. RENSCHLER vermochte außerdem den Nachweis zu erbringen, daß die Glukoseausscheidung in der Zeiteinheit unabhängig von der Größe der Diurese ist. Glukose wird als normaler Harnbestandteil anerkannt, und man spricht von pathologischer Glukosurie, wenn die Ausscheidung im Urin über 30 mg% Glukose liegt.

Eine Glukosurie tritt obligat oder fakultativ beim Diabetes mellitus, beim MIESCHER-Syndrom, bei der renalen familiären Glukosurie, beim tubulären Syndrom (dem de TONI - DEBRE - FANCONI - Syndrom), bei renaler Osteodys-

trophie, bei der Cystinose, beim LOWE - Syndrom, bei der WILSONschen Krankheit, bei Tubulusvergiftung mit Blei, Quecksilber, Vitamin D, Lysol, Uran, Ferricyankali, Phloridizin, bei Nephrose und Nephritis, bei der benignen funktionellen Glukosurie, bei der Glukose - Galaktose Malabsorption, bei Leberkrankheiten, bei Hypophysen - Nebennieren - Dysfunktionen und verschiedenen Infektionen auf (6). Ebenso kann im Urin bei schwangeren Frauen sowie bei Herzinfarkten Glukose ausgeschieden werden.

1) Der Diabetes mellitus

Die klinisch weitaus wichtigste Melliturie ist der Diabetes mellitus. Der Diabetes kann in jedem Alter einsetzen. Entweder liegt ihm ein absoluter, bei Glukagonüberproduktion ein relativer Insulinmangel vor. Die Folge ist eine Abnahme der Glukoseintoleranz, und als Hauptsymptome treten Hyperglykämie und Glukosurie auf. Endogene oder exogene Faktoren sind Schuld am Versagen der Insulinaktivität. Funktionsstörungen der β - Zellen des Pankreas oder Hemmstoffe des Insulins im Blute kommen als endogene Faktoren in Betracht. Exogen beeinflussen vor allem die Folgen der Zivilisation die Penetranz des Diabetes. Die Muskulatur, das Fettgewebe und ganz besonders die Leber haben die Fähigkeit eingebüßt, Glukose aufzunehmen und zu speichern. Andererseits wird die Glukose von der Leber produziert. Wird eine Glukosurie nachgewiesen, so müssen eine alimentäre und renale Glukosurie durch die orale Dextrosebelastung ausgeschlossen werden,

um die Diagnose Pankreasdiabetes zu stellen.

2) Das WIESCHER - Syndrom II

Beim sogenannten WIESCHER - Syndrom II stellen sich bald ein Diabetes mellitus und eine Glukosurie ein. Die Erkrankung geht mit Acanthosis nigricans, mit multiplen Abartungen wie Infantilismus, Hypertrichose, Cutis verticis gyrata und Zahndeformitäten einher. Wahrscheinlich handelt es sich bei diesem Syndrom um ein dominant erbliches Leiden mit beschränkter Penetranz (56).

3) Die renale familiäre Glukosurie

Die familiäre, monosymptomatische renale Glukosurie stellt ein einfaches dominantes Erbleiden dar. Es wird erkannt an der Glukoseausscheidung bei normalem oder häufig erniedrigtem Blutzucker, wobei sogar hochgradige Hypoglykämien völlig symptomlos ertragen werden, weil sie sich allmählich und im Gegensatz zur hyperinsulinämischen Hypoglykämie nicht plötzlich einstellen. Die Haufigkeit dieser Zuckerausscheidung beträgt 0,5 - 1%. Bald tritt die Glukosurie nach Grad der Störung ständig oder nur zeitweise nach der Nahrungsaufnahme auf. ROBBERS (76) beschreibt, daß in 16,5 % der von ihm beobachteten 90 Patienten mit renaler familiärer Glukosurie 30 g Glukose täglich ausgeschieden wurden. In einem Fall waren es sogar 106 g Glukose. Der renale Diabetes ist nicht progredient. Die täglich ausgeschiedene Menge an Glukose ist über Jahre konstant. Pathologische Verände-

rungen der Niere sind bisher nicht bewiesen. LEUBI (71) fand die Tubuli im Nierenpunktionspräparat unverändert. MONASTERIO (57) dagegen vermutet, daß die proximalen und distalen Tubulusabschnitte erweitert sind. Ein Übergang in einen echten Diabetes mellitus ist nicht beobachtet worden. Jedoch ist eine Verwechslung mit diesem zu vermeiden, da sich Insulingaben bei einer bereits bestehenden Hypoglykämie gefährlich auswirken können.

4) Das tubuläre Syndrom: de TONI - DEBRÉ - FANCONI

Zum Bild des de TONI - DEBRÉ - FANCONI - Syndroms gehören die Aminoacidurie, Elektrolytstörungen und Glukosurie. Es muß als Antwort auf verschiedenartige Noxen der Niere, besonders der proximalen Tubuli, aufgefaßt werden. Schon im ersten Lebensjahr erkranken die Kinder und zeigen bald rachitische Knochenveränderungen, watschelnden Gang und Minderwuchs. Eine Geschlechtsdisposition besteht nicht. Neir idiopathische Formen wurden von ROYER und GRATER (72) beschrieben. Die Heredität des Syndroms ist nicht geklärt. Der Verlauf der Erkrankung ist unterschiedlich. Ebenso wurde das Krankheitsbild bei multiplem Myelom von ENGLE (21) beobachtet.

5) Die renale Osteodystrophie

Ähnlich wie beim de TONI - DEBRÉ - FANCONI - Syndrom leiden die an renaler Osteodystrophie erkrankten Kinder an Rachitis und Minderwuchs. Die renale Osteodystrophie tritt meist als Folgeerscheinung einer chronischen Nie-

Tonephritis oder einer chronischen interstitiellen Nephritis auf. Die Niereninsuffizienz äußert sich in Hypo- oder Isosthenurie, Azotämie, Hypokalzämie und Glukosurie. Am häufigsten besteht ein Funktionsausfall der proximalen Tubuli.

6) Die Cystinose

Im Laufe des ersten Lebensjahres werden bei Kindern mit Cystinose bereits ein verlangsamtes Längenwachstum und eine Gewichtsabnahme beobachtet. Ihre Lichtscheu erklärt sich durch Cornealödeme, die durch Ablagerung von feinsten Cystinkristallen entstehen. Polydipsie, Polyurie, Glukosurie und Proteinurie stellen sich ein. Die Stoffwechselentgleisung liegt in der Unfähigkeit des Darmes, mit der Nahrung zugeführtes Methionin und Cystein abzubauen. Die Aminoacidurie, bei der meist mehr als 10 Aminosäuren ausgeschieden werden, und die Glukoseausscheidung sind durch eine Tubulusschädigung bedingt. Die Funktionsstörungen der Tubuli sind bei der Cystinose nicht angeboren, sondern entwickeln sich sekundär. Der Nierenschaden ist progredient und befällt die Glomeruli auch später. Es handelt sich um ein familiär auftretendes Leiden mit außerordentlich schlechter Prognose. Der Erbgang ist autosomal rezessiv (22).

7) Das LOWE - Syndrom

Bei dem oculo - cerebro - renalen Syndrom von LOWE gehört ebenfalls eine Affektion des proximalen Tubulus-

abschnittes zum Krankheitsbild. Der Erbgang ist x - chromosomal recessiv: nur Knaben erkranken. Sie sind kleinwüchsig und in der geistigen Entwicklung zurückgeblieben. Die Muskulatur ist hypotonisch, die Reflexe fehlen. Es besteht eine chronische renale Acidose. Cornerale Katarakt und Mikrophthalmie sind obligate Symptome. Im Urin findet sich eine mäßig generalisierte Aminoacidurie, Proteinurie und inkonstant eine Glukosurie.

8) Die WILSONsche Krankheit

Die hepatocerebrale Degeneration, auch Morbus WILSON genannt, führt zu einem verminderten Kupferspiegel im Blut, zur vermehrten Kupferausscheidung im Urin und zur Überschwemmung von ungebundenem Kupfer im Gewebe. Ursache der Erkrankung ist das Fehlen des kupferbindenden Plasmaproteins Coeruloplasmins. Die Kupferansammlung im Tubulus kann eine Aminoacidurie, Glukosurie und Phosphaturie zur Folge haben. Zu diesen Funktionsausfällen können sich noch praerenale Störungen wie Fruktosurie, Methioninurie und Tryptophanurie einstellen, die auf der fortschreitenden Leberinsuffizienz beruhen (5). Die Tubulusfunktionsstörungen sind bei der hepatocerebralen Degeneration nicht angeboren; wie bei der Cystinose entwickeln sie sich sekundär. Geschwistererkrankungen und Blutsverwandtschaft kommen gehäuft vor, ein autosomal recessiver Erbgang wird angenommen. Die Krankheit tritt meist erst im späteren Schulalter auf. Ihre Symptome zeigen sich durch Unaufmerksamkeit der Kinder, Tremor, athetotische Bewegungen, gei-

stige Abstumpfung. Bei fortschreitender Leberinsuffizienz kommt es zur Lebercirrhose und Gelbsucht. Außerdem ist bei diesen Kindern der grün - braune Kayser - Fleischersche Cornealring durch Kupferablagerung in der Descemetschen Membran zu sehen.

9) Tubulusvergiftungen

Bei Vergiftungen kommt es durch Enzymblockade im intermediären Zuckerstoffwechsel häufig zu pathologischen Glukoseausscheidungen (34). Weiter sind Aminoacidurie, Phosphaturie, Proteinurie, renale Acidose, vereinzelt auch Ausscheidungen von Zuckern wie Galaktose und Fruktose beobachtet worden. Renale Glukosurien mit ähnlichen komplexen Begleiterscheinungen treten auf infolge einer Blei -, Quecksilber -, Vitamin D -, Lysol -, Uran -, Ferricyankali -, Phloridizin -, Maleat -, Tetracyclinvergiftung. Nach der Genesung verschwinden die Störungen wieder vollkommen.

HARRISON (35) fand bei Bleivergiftungen Aminoacidurie, Glukosurie und vermehrte Phosphatausscheidung: alles Zeichen also einer Insuffizienz des proximalen Nierentubulus. Merkwürdigerweise tritt die Bleivergiftung nur während der Sommermonate auf, auch wenn die Einverleibung des Bleis im Winter begann. Als Ursache macht man die Sonnenstrahlen für die Resorption des Bleis im Darm verantwortlich.

10) Nephrose und Nephritis

Eine renale Glukosurie kommt bei der Schockniere, der Nephrose und chronischen Nephritis vor. Vaskulär entsteht die tubuläre Insuffizienz infolge Verminderung der Blutmenge und des Herzminutenvolumens beim Schock, wo eine hohe Hämokonzentration vorliegt sowie beim Vasomotorenkollaps und bei der Exsikkose. Bei der interstitiellen Nephritis, chronischen Glomerulonephritis und Pyelonephritis handelt es sich um entzündliche Vorgänge bedingt durch Infektionskrankheiten, die mit einer Dysfunktion der Tubuli reagieren (53). Ebenso zeigen die Tubuli Veränderungen bei der Nephrose. Ob es zur Entwicklung einer Nephrose oder Glomerulonephritis kommt, hängt von der jeweiligen Reaktionslage des Kindes ab. Vermögen sich die Abwehrkräfte des Kindes voll zu entfalten, wird es zu einer Nephritis kommen. Ist es jedoch abwehrschwach, so wird die Niere mit einer Nephrose reagieren. Einmal kann die Niere reaktionsärmer sein aus altersdispotionellen Gründen oder durch die gleichen bakteriellen Noxen bereits so geschädigt sein, daß sie mit einer Nephrose reagiert. Bei der Nephrose steht die toxinbedingte Durchlässigkeit der Glomerula und Tubuli im Vordergrund, während bei der Nephritis eine Durchblutungsstörung aufgrund allergisch - toxischer Vorgänge zu einer Tubulusinsuffizienz führt.

11) Die benigne funktionelle Glukosurie

Die Glukosurie pflegt morgens nach der ersten Mahl-

zeit aufzutreten und verschwindet danach bald wieder. Die Störung der benignen funktionellen Glukosurie liegt im Gegensatz zum renalen Diabetes praerenal. Für die Ursache der Glukoseausscheidung macht man einen verlangsamten Mechanismus verantwortlich, der für den Transport der Glukose nach normaler Darmresorption aus dem Blut in die Gewebe nötig ist. Auch bei diesem Leiden ist kein späterer Diabetes mellitus beobachtet worden.

Bei Kindern ist nach längerem Fasten infolge einer Erkrankung oder mangelhafter Ernährung eine Glukosurie möglich, wenn sie mit großen Zuckermengen ernährt werden, ohne an einem Diabetes mellitus zu leiden. Man spricht von dem Hunger - oder Strohfeuerdiabetes der Kinder. Schon HOFMEISTER (29) war diese Hungerglukosurie bekannt. In seiner Arbeit über den Hungerdiabetes deutet er 1890 daraufhin, daß eine Glukoseausscheidung nicht immer durch einen Diabetes mellitus verursacht sei. Bei diesem Leiden entsteht eine Hyperglykämie infolge verzögerter Zuckerverwertung in den Geweben, während die Fruktoseresorption ungestört vor sich geht.

Eine alimentäre Glukosurie kann bei gesunden Kindern und Erwachsenen ausgelöst werden, indem man ihnen durch intravenöse Injektionen von mehr als 0,85 g Glukose pro kg Körpergewicht verabreicht. Dagegen ist nach oraler Belastung die Glukoseausscheidung individuell verschieden (78).

12) Die Glukose - Galaktose Malabsorption

Das Malabsorption - Syndrom, erstmals 1962 von LINDQWIST und MEEUWISSE beschrieben, stellt eine heterogene, angeborene, familiäre Krankheitsgruppe dar. Die Ursache liegt im Ausfall des aktiven Transportes der Glukose und Galaktose in der Darmepithelzelle. Säuglinge erkranken sofort nach der Geburt an Durchfällen, die zu schwerer Dystrophie und sogar zum Tode führen. Die Durchfälle bestehen solange, als die Nahrung Glukose, Galaktose oder aus diesen Monosacchariden zusammengesetzte Disaccharide enthält. Fruktose wird als einziger Zucker resorbiert, weil nur sie passiv durch Diffusion die Darmwand passiert, während Galaktose und Glukose an ein Transportsystem gebunden sind. LINNEWEH und Mitarbeiter (51) betrachten diese Tatsache als Erklärung, daß nach Fruktosebelastung per os ein normaler Blutglukoseanstieg erfolgt, weil beim Menschen in der Darmepithelzelle keine Umwandlung von Fruktose in Glukose erfolgt. Eine renale Glukosurie wurde bei diesem Syndrom des öfteren beobachtet. Dies führt zu der Vermutung, daß im Nierentubulus bei der Rückresorption von Glukose ein ähnlicher Transportmechanismus wie bei der Resorption von Galaktose und Glukose im Dünndarm vorhanden ist (51, 33)

13) Lebererkrankungen

Bei Lebererkrankungen wie Cirrhose, Hepatitis, Parenchymschäden ist seit langer Zeit eine Herabsetzung der Glukosetoleranz bekannt (47). Der sogenannte hepati-

sche Diabetes kommt wohl wegen Nichtansprechens der Ueberzellen auf Insulin zustande. Eine Glukosurie ist daher oft die Folge. Vom Pankreasdiabetes kann er durch intravenöse Dextrosebelastung unterschieden werden. Beim hepatischen Diabetes kehrt der Blutzuckerspiegel viel eher zur Norm zurück als beim Pankreasdiabetes (22).

14) Hypophysen - Nebennieren - Insulinfunktionen

Zu den diabetogenen Hormonen, die Hyperglykämie, Glukosurie und zum Teil auch einen permanenten Diabetes hervorrufen können, gehört das Wachstumshormon, das adrenocorticotrope Hormon, die Nebennierenrindenhormone Hydrocortison, Cortison sowie das von der Schilddrüse produzierte Thyroxin. Ähnlich wie beim hormonalen sekundären Diabetes bei Tieren, denen Wachstumshormone gegeben worden sind, läßt sich auch bei der Zuckerkrankheit der Akromegalie ein reversibler (isohypophysärer) von einem permanenten (metahypophysären) Diabetes unterscheiden (69).
Im Durchschnitt dauert es zwei Jahre nach Erkennung der Zuckerkrankheit, daß sich der temporäre in einen permanenten Diabetes verwandelt, das heißt, daß die Ausschaltung der Hypophyse die Störung des Zuckerhaushaltes bedingt (62). Der sekundäre Diabetes bei Cushing scher Krankheit ist nur selten permanent, daher besteht oft nur eine zeitweilige Glukosurie. Im allgemeinen führt die Beseitigung der Nebennierenüberfunktion zu einem völligen Verschwinden der Krankheitssymptome. Die Ursache der Störung der Kohlenhydratverwertung ist die vermehrte Cortisolkon-

zentration im Blute dieser Kranken. Ein Drittel der Fälle an Thyreotoxikose Erkrankter geht mit erniedrigter Glukosetoleranz einher, sodaß bei ihnen eine Glukosurie auftritt. Möglicherweise entspricht diese Glukosurie der Hungerglukosurie, bedingt durch den gesteigerten Grundumsatz. Ebenso wurde eine Glukosurie bei gesteigertem Sympathicotonus sowie beim Stress durch Angst oder Wut beobachtet.

15) Fieberzustände bei Infektionskrankheiten

Zum Erscheinungsbild schwerer Fieberzustände bei akuter und chronischer Infektionen gehört oft auch eine Glukosurie. Bei akuten, gegen tödlich verlaufenden Encephalitiden kann ein Zusammenbruch nicht nur der Osmo- und Thermoregulation, sondern auch der Glukoseregulation vorkommen. Hyperpyrexie bis 42° und eine Glukoseausscheidung bis zu 500 mg% werden angegeben (68).

16) Glukosurie bei Schwangeren

Seit 1850 ist bekannt, daß im Urin gravider Frauen eine reduzierende Substanz ausgeschieden wird. In Deutschland vermochten LEHMANN (49) 1850 und in Frankreich BLOT (10) 1856 diese zum ersten Male nachzuweisen. MOSLER (59) bestätigte 1890, daß bei vielen gesunden Schwangeren wenige mg Glukose im Urin vorkommen. Bei neueren Untersuchungen ergab sich, daß 40% aller schwangeren Frauen mehr als 140 mg% Glukose ausscheiden. Dabei liegt das Maximum im 9. Schwangerschaftsmonat. Als Ursache wird eine Verringerung der prozentualen Glukoseresorption im proximalen

Tubulus als ein wesentlicher Faktor in der Schwangerschaftsglukosurie angenommen (70, 2).

17) Glukosurie bei Herzinfarkten

Erwähnt sei, daß man in der Frühphase eines akuten Herzinfarktes bei gewissen Patienten einen erhöhten Blutzucker und eine Glukosurie findet. Die meisten dieser Kranken sind latente Diabetiker, die vermehrt zur Coronarsklerose neigen (25, 11).

B. Galaktosurie:

Galaktose befindet sich wesentlich seltener als Glukose und in nur geringen Mengen im Urin. Bekannt ist, daß bei der idiopathischen Galaktosämie, bei schweren Leberparenchymschäden und bei der Hepatitis der Neugeborenen Galaktose im Urin ausgeschieden wird. Von HARDING (34) wird weiter berichtet, daß es bereits nach Belastung mit 10 g zur Galaktosurie kommen kann.
Eine Belastung mit Galaktose hat sich als eine Leberfunktionsprobe bewährt (88). Galaktose, die von allen Hexosen am schnellsten aus dem Darm resorbiert wird, kann nur in der Leber zu Glykogen umgebaut werden. Untersucht wurde, ob sich bei oraler Belastung mit 40 g die Galaktosämiekurve als Leberfunktionstest bewähre. Die Resultate nach Gabe von 40 g Galaktose in 250 ml Tee sind folgende, wenn während 3 Std. jeweils nach 15 Min. die Galaktoseausscheidung im Urin bestimmt wird: nach 30 - 60 Min. unter 120 mg%

und nach 90 Min. unter 40 mg%. In den pathologischen Fällen zeigt die ausgeschiedene Menge an Galaktose einen wesentlich höheren Wert.

1) Idiopathische Galaktosämie (Galaktosediabetes)

Die Galaktosämie, eine autosomal - recessiv erbliche Erkrankung, beruht auf der Aktivitätsminderung der Phosphogalakto - uridyltransferase, die Galaktose-1-Phosphat in Glukose-1-Phosphat verwandelt. Dieses Enzym fehlt in den Erythrocyten, und bei den gesunden Heterocygot ist es auf die Hälfte reduziert (45). Eine akute F wird von einer weniger schwer verlaufenden, chronischen unterschieden. Die akute Form setzt bald nach der Geburt ein, wenn die Galaktose nicht aus der Nahrung weggelassen wird. Besonders gefährlich ist die Muttermilch mit ihrer 7% Laktose. Die Galaktosämie bedingt mangelhaftes Gedeihen, Hepatosplenomegalie, Lebercirrhose und Ikterus, Katarakt und geistigen Entwicklungsrückstand. Bei dieser akuten Form der Homocygoten besteht eine hohe Letalität, sofern diese Krankheit nicht rechtzeitig erkannt wird. Bereits während des 1. Lebensjahres führt die Lebercirrhose vom Brennecschen Typ zum Tode. Im Urin findet man Galaktose, Aminosäuren und Eiweiß. Die chronische Form tritt gelegentlich erst mit 2 Jahren oder später auf und zeigt einen langsamen Verlauf mit Lebercirrhose, Linsenkatarakt und Schwachsinn. Diese Art der Erkrankung ist die seltenere. Auch hier liegt eine Galaktosurie vor. Die Organschädi-

gungen sind wahrscheinlich durch die Anhäufung von Galaktose-1-Phosphat bedingt. Die rechtzeitige Erkennung dieser Erkrankung, deren Häufigkeit bei Homocygoten 1 : 70 000, bei Heterocygoten 1 : 270 beträgt, ist wichtig, um eine erfolgreiche Therapie anwenden zu können. Ein Frühtest auf Galaktosämie im Blut entwickelte GUTHRIE.

2) Galaktosurie bei Leberschäden

Eine Herabsetzung der Galaktosetoleranz besteht bei verschiedenen Lebererkrankungen wie toxische Parenchymschäden, Hepatitis und Cirrhose (47, 26). Bei allen diesen Erkrankungen ist Galaktosurie des öfteren beobachtet worden. Da eine Parenchymschädigung der Leber vorliegt, kann das anfallende Galaktose-1-Phosphat nur ungenügend zu Glykogen umgebaut werden, sodaß eine Galaktosurie die Folge ist.

Der Galaktosediabetes durch Galaktokinase - Mangel

Kürzlich stellte GITZELMANN (30) einen Galaktosediabetes infolge eines neuerkannten Enzymdefektes fest. Bei dieser Erkrankung beruht die ursächliche Stoffwechselstörung nicht auf einem Fehlen der Uridyltransferase, sondern auf einer Blockade der Umwandlung von Galaktose in Galaktose-1-Phosphat infolge Mangels an Galaktokinase. Ein Fehlen dieses Fermentes war bisher nur bei verschiedenen E. coli-Mutanten bekannt, bei Säugern dagegen in keinem Fall. Aus Hefearten, die Galaktose verwerten können, wurde Galaktokinase isoliert, welche in Gegenwart von ATP die Galaktose in Galaktose-1-Phosphat überführt.

C. Laktosurie:

Laktose, ein Disaccharid, zeigt sich mitunter bei milchreicher Kost und wird in Konzentrationen bis zu 50 mg% ausgeschieden (7). Vorwiegend sind Darmerkrankungen, schwere Säuglingsdyspepsien, Neugeborenenikterus mit Sepsis und Hiatushernien von Laktosurien begleitet (58). HO MEISTER (39) wies schon nach, daß sich im Urin bei Wöchnerinnen eine reduzierende Substanz befindet, bei der es sich um Laktose handelt. Ursache ist die Diffusion von Laktose aus der Milchdrüse ins Blut. Da dieser Zucker, wenn er direkt in die Blutbahn gelangt, nicht verwertet werden kann, wird er im Urin vollständig ausgeschieden.

Die idiopathische Laktosurie

Ein schweres Krankheitsbild stellt die idiopathische Laktosurie dar. Es geht außer der Laktoseausscheidung mit Aminoaciurie und renaler Acidose einher. Es wurde erstmalig von DE TONI (17) 1958 diagnostiziert. Daher spricht man auch vom DE TONI - Syndrom. Ob es sich bei diesem Krankheitsbild nur um die "forme majeure" der von HOLZEL beschriebenen Alactasie oder um eine andere Enzymopathie handelt, läßt sich heute noch nicht endgültig entscheiden.

D. Saccharosurie:

PEUSS und NIEMSCHEI (73, 74) vermochten 1911 den Nachweis von Saccharose im Urin zu erbringen. Das Disaccharid Saccharose wird nach enzymatischer Hydrolyse im

Darm resorbiert. Gelangt Saccharose, ohne diesen Prozeß durchgemacht zu haben, in die Blutbahn, so wird sie völlig unverändert wieder durch die Niere ausgeschieden. Eine enzymatische Spaltung außerhalb des Darmes ist nicht möglich und eine tubuläre Rückresorption besteht nicht. Abhängig von der jeweiligen Ernährung, besonders nach reichlichem Obstgenuß, wird Saccharose in einer Konzentration zwischen 10 und 30 mg% ausgeschieden (7). Die Saccharosurie tritt bei Darmerkrankungen infolge einer erhöhten Darmpermeabilität auf. Beobachtet wurde sie bei Sprue, Hiatushernie, Coeliakie, bei Brechzuständen und Pylorusspasmus. Die 1954 von MONCIEFF (58) beschriebene Saccharosurie bei Hiatushernie ist mit Schwachsinn kombiniert. Neben den symtomatischen sind idiopatische Saccharosurien bekannt (20).

E. Fruktosurie:

Das Vorkommen von Fruktose im Urin ist abhängig von der Ernährung. Dieser Zucker wird mit reifen Früchten und Honig aufgenommen. ZIMMER (94) entdeckte 1876 die Fruktosurie. Ausgeschieden wird der Zucker im Urin bei der benignen Fruktosurie, der hereditären Fruktoseintoleranz, bei Hepatitis und Cirrhose, bei der WILSONschen Krankheit, Quecksilber Vergiftung und schweren Allgemeininfektionen.

1) Die benigne Fruktosurie

Die benigne oder auch essentielle Fruktosurie kommt selten vor. Die Häufigkeit liegt bei 1 : 130 000. Sie wird wahrscheinlich durch Insuffizienz des Leberenzyms Fruktokinase hervorgerufen, die die Fruktose zu Fruktose-1-Phosphat phosphoryliert. Die vermeintliche Störung in der Enzymkette konnte durch Leberbiopsie noch nicht nachgewiesen werden. Die aus dem Darm kommende Fruktose kann also nicht in die Leberzellen eindringen und weiter verwertet werden. Sie staut sich im Blut ohne Schaden zu hinterlassen und geht in den Urin über. Es handelt sich daher um eine harmlose Stoffwechselstörung (85).

2) Die hereditäre Fruktoseintoleranz

In den letzten Jahren wurde eine andere Störung des Fruktosestoffwechsels erkannt, die zuerst von CHAMBERS und PRATT (15) beschrieben wurde. Eingehende Untersuchungen machten FROESCH und KUHER (27), die dieses Syndrom "hereditäre Fruktoseintoleranz" nannten. Über die Pathogenese dieses Syndroms ist bekannt: in der Leberzelle wird Fruktose durch die Fruktokinase zu Fruktose-1-Phosphat phosphoryliert, das unmittelbar in die beiden Triosen D-Glycerinaldehyd und Phosphodihydroxyaceton gespalten wird. FROESCH zeigte bei der hereditären Fruktoseintoleranz den Abfall der Serumphosphatwerte und eine verminderte Aktivität der 1-Phosphofruktaldolase. Dieser Defekt konnte durch Leberbiopsie nachgewiesen werden. Man beobachtet ein schweres Krankheitsbild mit Erbrechen,

Schweißausbruch, Bewußtseinsstörungen und langdauernder Hypoglykämie im Anschluß an Fruktoseverabreichung. Fruktose-1-Phosphat sammelt sich in der Leberzelle an, es entsteht eine Fruktosurie.

F. Pentosurie:

SALKOWSKI und JASTROWITZ (79) berichten im Jahre 1892 über eine Pentosurie. 1924 beschrieb GARROD die essentielle Form. Die Verbreitung dieser Stoffwechselanomalie, die in der jüdischen Bevölkerung aufzutreten pflegt, liegt bei 1 : 50 000. Im Urin der Erkrankten wird L-Xylose gefunden. Die täglich ausgeschiedene Menge kann bis zu 4 g betragen. Als Ursache nimmt man das Fehlen oder die Hemmung eines Fermentes an, das an der Reduktion von L-Xylose zu Xylit beteiligt ist. Dieses Enzym, so vermutet man, fehlt in der Leber der Pentosuriker (86, 36). Meist wird die L-Xyloseausscheidung als Diabetes mellitus verkannt und als solcher behandelt.

Eine Belastung durch L-Xylose mit anschließender Beobachtung der in dem Urin ausgeschiedenen Menge wurde ursprünglich als Nierenfunktionstest vorgeschlagen (23). Später wurde die Ausscheidung von D-Xylose im Urin als Maßstab der Resorption des Dünndarmes von HELMER und FONTS (37) bei den Untersuchungen der Steatorrhoe benutzt. Nachdem FOUREMAN (24) eine Verminderung der D-Xyloseausscheidung bei Patienten mit Steatorrhoe beobachtet hatte, schlug er vor, sie als Maßstab füe die Absorption im Dünndarm

und in der Diagnose ähnlicher Malabsorptionssyndrome zu benutzen. In vielen Kliniken wird heute der D-Xylose-Absorptionstest als Routineuntersuchung in der Diagnose des Malabsorptionssyndrom verwendet. ALLEN und VEST (1) untersuchten die Xylose usscheidung bei Gesunden nach oraler Belastung von 0,5 g D-Xylose pro kg Körpergewicht. Die innerhalb von 5 Stunden nach Verabreichung der D-Xylose im Urin gefundenen Menge wurde in Prozent der verabreichten Dosis ausgedrückt. Es wurde festgestellt, daß die Durchschnittswerte bei Säuglingen am niedrigsten waren und mit dem Alter der Kinder anstiegen. Es besteht eine beträchtliche Streuung. Normalerweise werden 3-6 der verabreichten Menge im Urin ausgeschieden. Bei florider gliadinempfindlicher Coeliakie liegen die Werte viel tiefer (31).

Bei einer Hypothyreose war die 5-Stunden-Urinausscheidung der D-Xylose wie bei der Norm auf Werte um 2,1 ± 0,9 g erniedrigt. Dieses Ergebnis wird auf eine reduzierte renale Xylose - Clearence zurückgeführt, da auch bei intravenöser Gabe die Pentose usscheidung herabgesetzt blieb. Die Hyperthyreosekranken schieden dagegen im Vergleich zu Gesunden nach oraler und nach intravenöser Belastung eine größere Menge aus. Vermutlich liegt eine gesteigerte glomeruläre Filtration vor (13).

Pentosurien kommen vor, wenn reichlich Obst und Beeren gegessen werden.

Außer Xylose kann Arabinose vorhanden sein. Zwar von LASKE (48) angezweifelt vermochten BARNES und BLOOMBERG (3) doch eine Arabinosurie durch papierchromatogra-

phische Arbeiten nachzuweisen.

Eine Ribosurie bei gewissen Fällen von progressiver Muskeldystrophie ließ sich nicht beweisen (54, 47).

Auf ein gelegentliches Vorkommen von Rhamnose weist EASTMAN (18) hin. Die Pentosurie stellt immer eine harmlose Form der Melliturie dar.

G. Verschiedene Formen kombinierter Melliturien:

Nicht immer wird nur ein Zucker wie bei den bisher beschriebenen Formen der Melliturie ausgeschieden. Es besteht die Möglichkeit, daß Laktose zusammen mit Glukose, Galaktose, Fruktose und Saccharose vorkommt oder nur zwei bzw. drei der genannten Zucker kombiniert sind. Bei Pylorusstenose, chronischem Erbrechen, Intoxikation und Sepsis und bei akuten infektiös-toxischen Leberschäden oder schwerer Rachitis treten mehrere Zucker auf.

Zusätzlich findet sich gelegentlich auch Glukuronsäure und Galakturonsäure im Urin. Die Glukuronsäure ist von physiologischer Bedeutung, da sie sich mit Stoffwechselprodukten oder bestimmten körperfremden Stoffen glycosidartig verbinden kann. Der Vorgang ist eine Entgiftungsreaktion. Die Verbindungen werden als gepaarte oder konjugierte Glukuronsäuren im Urin ausgeschieden (50).

Diskussion

Bei den einzelnen Formen der Melliturien kommt es

heute entscheidend auf die Frühdiagnose an, um eine Therapie rechtzeitig durchführen zu können. Diese besteht meist in der Einhaltung einer bestimmten Diät unter Weglassen des nichtmetabolisierten Zuckers. Viele Patienten, insbesondere Säuglinge und Kleinkinder, starben oder litten an Defektheilungen, weil die Erkrankung verkannt oder zu spät erkannt wurde. Ein schnelles Handeln schon in den ersten Lebenstagen ist bei der Galaktosämie dringend notwendig, um eine sichere Heilung zu erzielen. Auch bei der Glukose - Galaktose - Malabsorption, der Laktosurie und der Fruktoseintoleranz kommt es auf ein rasches Handeln an, denn nach einigen Wochen oder Monaten treten Dauerschäden ein, wenn eine falsche Diagnose gestellt wurde.

II. Methoden zum Zuckernachweis

Bereits seit etwa hundert Jahren ist bekannt, daß verschiedene Zucker im Urin ausgeschieden werden können. Zahlreiche Arbeiten sind seitdem auf diesem Gebiete veröffentlicht worden. Lange Zeit hindurch bediente man sich zum Zuckernachweis der Reduktionsproben, der Gärprobe, gewisser Farbreaktionen und der Bildung schwerlöslicher Produkte, deren Schmelzpunkte bestimmt werden konnten. Es reagieren dabei im allgemeinen die Aldehyd - oder Ketogruppen der Zucker, die auch als Hydroxyaldehyde oder Hydroxyketone aufgefaßt werden können.

1) Die Reduktionsproben

Infolge ihrer reduzierenden Wirkung auf verschiedene Metallsalze lassen sich die Zucker mit Hilfe von Fehlingscher Lösung durch die Bildung des rötlich gefärbten Kupfer-I-oxyds nachweisen, während mit Nylander-Reagenz aus einer alkalischen Wismutsalzlösung elementares Wismut als schwarzer Niederschlag abgeschieden wird. Häufig wurde auch die Reduktionsprobe nach Benedict durchgeführt. Dieses Reagenz ist ähnlich wie die Fehlingsche Lösung zusammengesetzt. Sie wurde auch zur Voruntersuchung beim papierchromatischen Zuckernachweis verwendet; so konnte zuvor annäherungsweise die Zuckermenge bestimmt und der Urin etwa auf die vorgeschriebene Konzentration an Zucker verdünnt werden (19). Die Reduktionsproben erzielten jedoch häufig keine zuverlässigen Ergebnisse (55). Bei Saccharose als nicht reduzierenden Zucker fällt die Probe negativ aus. Sie wird erst nach der Spaltung mit verdünnten Säuren erfaßt. Andererseits vermögen gewisse Arzneimittel (Salicylate, Hydrazinderivate, Antibiotika) und andere physiologische Substanzen wie Ascorbinsäure, Kreatinin und Homogentisinsäure eine Zuckerausscheidung vorzutäuschen, da auch diese Stoffe mit den Metallsalzen der genannten Reagenzien reagieren. Außerdem sind die Reaktionen relativ unempfindlich. Es ist keine Aussage möglich, ob eine isolierte Glukosurie vorliegt oder es sich teilweise oder gänzlich um andere Zucker handelt. So ließen sich, wie BICKEL (5) 1959 papierchromatographisch nachwies, nur 77 von 131 Melliturien als isolierte Glukosurien diagnos-

tizieren.

2) Die Gärprobe

Ähnliche Nachteile birgt auch die Gärrobe in sich, die auch nur von geringer Empfindlichkeit ist. Außerdem müssen drei Versuche nebeneinander angesetzt werden, da auch Blindversuche auf Gärfähigkeit der Hefe und eventuelle Eigengärung geführt werden müssen. Einige Zucker wie z.B. Laktose lassen sich mit der üblichen Backerhefe gar nicht vergären.

3) Gewisse Farbreaktionen und die Bildung schwerlöslicher Produkte.

Da diese Nachweise nur einen allgemeinen Hinweis auf das Vorkommen von Zuckern geben, mußten spezifische Teste für die verschiedenen Zucker entwickelt werden, von denen hier die wichtigsten genannt werden sollen. So ergeben verschiedene Zucker mit Phenylhydrazin und deren Derivaten gelb gefärbte, schwerlösliche Osazone mit charakteristischen Schmelzpunkten. Das mikroskopische Bild der entstandenen Kristalle gibt gewisse Hinweise. Von Nachteil ist u.a., daß sogenannte epimere Zucker, z.B. Glukose und Fruktose, die häufig nebeneinander vorkommen, das gleiche Osazon bilden und sich daher nicht unterscheiden lassen. Daneben gibt es Farbreaktionen auf einzelne Zucker, so u.a. die Probe nach Kubner auf Laktose, die Probe nach Seliwanoff auf Fruktose und mit Biels Reagenz auf Pentosen. Glukose läßt sich seit einigen Jahren recht einfach durch

die Glukoseoxydasereaktion (Glukotest, Clinitest, Tes - Tape) nachweisen.

Im letzten Jahr beschrieben ROE und RICE (77) eine Bestimmung für Pentosen, die auch quantitativ ausgewertet wurde. Das beim Erhitzen entstehende Furfurol wird mit p-Bromanilin zu einem rosa Farbstoff umgesetzt, der spektrophotometrisch gemessen wird. Der Test ist spezifisch für Pentosen, während Glukose und Galaktose in größerer Menge störend wirken.

Die aufgeführten Methoden haben den Nachteil, daß sie nicht immer spezifisch und auch teilweise in ihrer Anwendung recht umständlich (48), daher für Reihenuntersuchungen ungeeignet sind. Weiterhin sind sie meistens nicht brauchbar, wenn Zuckergemische getrennt werden sollen und die zu analysierenden Zuckermengen nur gering sind. Daher war man bestrebt, kombinierte Trenn- und Nachweisverfahren einzuführen, um mehrere Zucker nebeneinander in geringen Konzentrationen noch identifizieren zu können. Zur Lösung dieses Problems versuchte man die Papierchromatographie einzusetzen.

4) Die Papierchromatographie

Seit etwa vierzig Jahren werden die chromatographischen Verfahren in immer größerem Maße zur Trennung von Stoffgemischen herangezogen, die sonst häufig gar nicht oder nur sehr schwierig zerlegt werden können. Insbesondere zählen dazu chemisch verwandte oder isomere Verbindungen, wie es bei den Zuckern der Fall ist.

Je nach den physikochemischen Grundlagen der Trennprozesse unterscheidet man Adsorptions-, Verteilungs- und Ionenaus-

tauschchromatographie. Bei den meisten Trennungen überlagern sich die Effekte, die auch von den Versuchsbedingungen abhängig sind.

Die Papierchromatographie beruht im wesentlichen auf Verteilungsvorgängen; entscheidend dabei ist die unterschiedliche Löslichkeit einer Substanz in zwei nur teilweise miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Die eine flüssige Phase, nämlich Wasser, ist auf dem Trägermaterial Papier lokalisiert und wird stationäre Phase genannt; über ihre Oberfläche und durch die Zwischenräume des Papiers strömt die andere Flüssigkeit. Sie stellt die mobile Phase dar. Während des Laufvorgangs kommt es zum Stoffaustausch an den großen Oberflächen der beiden Phasen, der sich oft wiederholt, bis eine Trennung der Stoffe eingetreten ist. Alsdann wird das Chromatogramm aus der Kammer entfernt, und die einzelnen Substanzen lassen sich durch verschiedene Anfärbemethoden als Flecke sichtbar machen. Da sich die Papierchromatographie besonders zur Trennung hydrophiler Substanzen eignet, wurde sie auch bald zur Identifizierung von Zuckern herangezogen. Ausführliche Untersuchungen auf diesem Gebiet wurden 1948 von PARTRIDGE und WESTALL (34) durchgeführt, während HOCKS und LANNING (40) 1949 verschiedene Zucker im Urin papierchromatographisch nachweisen konnten. Von dieser Zeit an liegen zahlreiche Arbeiten über qualitative und quantitative Zuckerbestimmungen vor, von denen hier nur einige genannt sein sollen. ASHWORTH und MITCHELL (4) variierten das Verfahren, indem sie die Zucker erst in Phenylosazone überführten und diese anschließend papier-

chromatographisch nachwiesen. Wie auch andere Autoren häufig berichten, zeigten die Derivate von Glukose und Galaktose untereinander die gleichen RF-Werte, was ebenfalls bei der Trennung der reinen Zucker häufig der Fall war. Eine Zerlegung dieser beiden Zucker jedoch erzielten CHAN und CAIN (16), die daneben auch weitere Hexosen und Pentosen nachweisen konnten. Die eluierten Zucker wurden durch eine mikrokolorimetrische Methode auch quantitativ erfaßt.

BICKEL wandte die Papierchromatographie speziell zur Diagnostik der Melliturien an. Die in diesem Zusammenhang interessierenden Zucker konnten während einer Dauer von 2 - 3 Tagen hinreichend getrennt und mit einer Fehlergrenze von etwa 15% quantitativ ermittelt werden.

5) Die Dünnschichtchromatographie

Dieser nur kurzen Abhandlung der Papierchromatographie soll eine ausführlichere Beschreibung der Dünnschichtchromatographie folgen, da sie gegenüber ersterer zahlreiche Vorteile besitzt und daher auch für die im Rahmen dieser Arbeit anfallenden Probleme benutzt wurde.

Die Dünnschichtchromatographie stellt im wesentlichen eine Adsorptionschromatographie dar; letztere wurde erstmals durch den russischen Forscher TSWETT (87) systematisch zur Trennung und Identifizierung von Pflanzenfarbstoffen angewandt. Das pulverförmige Adsorbens, an dem sich die Farbzonen ausbildeten, wurde in senkrecht stehende Glasrohre gefüllt. Dieses als Saulenchromatographie bekannte Verfahren

wurde lange Zeit hindurch benutzt. KIRCHNER, MILLER und KELLER (46) beschrieben 1951 eine neue Methode für die Trennung und Identifizierung von Terpenen; dieses Verfahren wurde durch grundlegende Arbeiten von STAHL u.a. weiterentwickelt und als Dünnschichtchromatographie bezeichnet. Die Anordnung des Adsorbens erfolgt dabei in einer Schicht, also "offen", nicht "geschlossen" wie in einer Säule. Als Adsorbens verwendet man anorganische (Aluminiumoxid, Kieselgel, Kieselgur u.a.) oder organische (z.B. Zellulose oder ihre Derivate) oberflächenaktive Stoffe. Außerdem erfolgt häufig ein Zusatz von Gips, der als Bindemittel fungiert.
Im einzelnen geht man so vor, daß die mit Wasser oder wäßriger Lösung aufgeschlämmte Trägermasse mit Hilfe eines Streichgeräts in gleichmäßig dünner Schicht, die zwischen 20 und 200 µ variieren kann, auf Glasplatten aufgetragen wird. Auf die getrockneten Platten wird das Substanzgemisch aufgebracht. Anschließend läßt man über die Auftragstelle der aufrechtstehenden Platten ein geeignetes Lösungsmittel fließen, das durch Kapillarkräfte an dem Trägermaterial aufsteigt. Dabei konkurrieren die Moleküle der aufgetragenen Substanzen sowie die des Fließmittels um die mehr oder weniger große Oberfläche des Adsorbens. Es hängt vom Verhältnis der Affinitäten zum Trägermaterial und andererseits zum Fließmittel ab, wie weit die Substanzmoleküle vom Lösungsmittel mittransportiert werden. Bei überwiegender Affinität zum Adsorbens wandern die Substanzen gar nicht oder nur langsam, während sie bei geringerer Affinität schneller mitgerissen werden. Bereits sehr geringe Affinitätsunterschiede

macht man sich zur Trennung von Gemischen zunutze.

Von Bedeutung ist auch die Wahl des Sorptionsmittels und in vielen Fällen dessen Korngröße. Kleine Teilchen ergeben lange Laufzeiten sowie bessere Trennungen, größere Teilchen dagegen schnelle Laufzeiten und schlechtere Auftrennungen, weil die aktive Oberfläche umso größer ist je kleiner die Teilchen sind. Von den gebräuchlichen Fließmitteln stellt Kieselgel-G eine hochaktive saure Trägerschicht dar. "Sauer" bezieht sich auf seine Eigenschaft, eine starke Base mit neutralem Fließmittel am Startpunkt festzuhalten. Daher eignet sich Kieselgel-G für die Trennung nicht zu hydrophiler, saurer und neutraler Substanzen. Aluminiumoxyd-G ergibt eine aktive, schwach basische Trägerschicht und ist zur Trennung neutraler und schwach basischer Verbindungen geeignet. Kieselgur-G ist eine praktisch inaktive, neutrale Trägerschicht, an der die Verteilung stark hydrophiler Stoffe vor sich geht. Cellulose haftet weniger fest als die vorher genannten Sorptionsmittel. Sie reagiert neutral und läßt sich durch chemische Abänderungen weitgehend in seinen Eigenschaften variieren.

Weiterhin ist die Wahl des richtigen Fließmittels von entscheidender Bedeutung. Dazu ist es wichtig, deren Dielektrizitätskonstanten zu kennen, die einen Anhaltspunkt für die Polarität geben. In der eluotropen Reihe sind die Fließmittel nach ihrer Polarität geordnet, die in engem Zusammenhang mit der Elutionswirkung steht. Die Zucker, die infolge mehrerer Hydroxylgruppen stärker hydrophil reagieren, werden bei Verwendung wenig polarer Lösungsmittel wie z.B.

Hexan, Cyclohexan oder Benzol am Startpunkt zurückbleiben. Die eluierende Wirkung wird daher mit stärker polaren Fließmitteln in der Reihenfolge Chloroform, Essigsäureäthylester, Alkohol und Wasser zunehmen.

Bei der Durchführung einer chromatographischen Trennung müssen also die physikalisch-chemischen Eigenschaften des zu trennenden Gemisches, des Sorptionsmittels und des Fließmittels berücksichtigt werden, denn alle drei stehen in engem Zusammenhang. Da sich alle drei Faktoren gegenseitig beeinflussen, müssen sie konstant gehalten werden, wenn die Laufstrecken bzw. die R_F-Werte reproduzierbar sein sollen. Die Wanderungsweite der Substanz wird durch den R_F-Wert angegeben. Er stellt den Quotienten aus der Wanderungsstrecke der Substanz und der Fließmittelfront vom Startpunkt der Substanz aus gerechnet dar:

$$R_F\text{-Wert} = \frac{\text{Entfernung der Substanz vom Startpunkt}}{\text{Entfernung der Fließmittelfront vom Startpunkt}}$$

Die R_F-Werte können durch Temperatur, unvollkommene Kammersättigung, Konzentrationsunterschiede der zu trennenden Substanzen und Verunreinigungen der Lösungsmittel beeinflußt werden. Daher stellen die gefundenen R_F-Werte nur Richtwerte dar, und es ist ratsam, bei der Analyse eine Bezugssubstanz mitlaufen zu lassen. Häufig wird deren R_F-Wert willkürlich gleich 1 gesetzt und ein relativer R-Wert angegeben.

Zu ergänzen wären noch die Methoden zur Identifizierung der getrennten Substanzen. Wenn sie eine Eigenfarbe besitzen

oder bei Bestrahlung mit UV-Licht fluoreszieren, so können sie nach der Trennung leicht wiedergefunden werden. Bei farblosen Substanzen macht man sich häufig deren Absorption im ultravioletten Bereich zunutze, oder es kann dem Sorptionsmittel ein Fluoreszenzfarbstoff zugesetzt werden, der durch UV-Licht angeregt wird. Die UV-absorbierenden Substanzen können als fluoreszenzlöschende, dunkle Flecken auf fluoreszierendem Untergrund erkannt werden. Sie können herausgekratzt und die Stoffe extrahiert werden, so daß eine spektrophotometrische Bestimmung möglich ist. In anderen Fällen lassen sich die getrennten Stoffe nachweisen, indem die Platte mit der Lösung eines geeigneten Reagenzes besprüht wird, das mit den zu identifizierenden Stoffen farbige Verbindungen ergibt. Günstig ist es dabei natürlich, wenn die Färbungen mit einem einzigen Reagenz sich bei den verschiedenen nachzuweisenden Verbindungen unterscheiden.

Im Anschluß an die Ausführungen über die theoretischen Grundlagen der Dünnschichtchromatographie soll im folgenden ein kurzer Überblick über die bisher erfolgte, praktische Anwendung in der Analytik der Zucker bzw. seiner Derivate gegeben werden. Nachdem bereits mit Erfolg zahlreiche dünnschichtchromatographische Trennungen auf dem Gebiete der Naturstoffchemie durchgeführt worden waren, wandten STAHL und KALTENBACH (83) 1961 dieses Verfahren auf die Spurenanalyse von Zuckergemischen an. Da sie mit Kieselgel-G-Schichten und Aluminiumoxid-G-Schichten keinen Erfolg hatten, wählten sie für ihre Versuche schwach mit

natriumacetat gepufferte Kieselgur-G-Platten. Hiermit konnten Gemische der häufigeren Pentosen und Hexosen zerlegt werden, allerdings ohne Auftrennung von Glukose und Galaktose.

SCHEIGER (80) wendete zum Identifizieren der Hydrolyseprodukte pflanzlicher Polysaccharide Cellulose-Pulver als Sorptionsmittel an; es wurden nur wenige Zucker eingesetzt. Glukose und Galaktose zeigten unterschiedliche R_{Tu}-Werte. Das abgebildete Chromatogramm wies auch auf die Möglichkeit hin, mit diesem Verfahren Uronsäuren aufzutrennen. Nachteilig ist jedoch, daß bei zweimaliger Chromatographie etwa 4 Std. Arbeitszeit benötigt werden.

KINA und HEMMANN (75) konnten verschiedene Zucker, die im Harn vorkommen, identifizieren, indem sie die Phenylosazone herstellten und diese dünnschichtchromatographisch als Boratkomplexe auftrennten. Da jedoch Fruktose und Glukose bzw. Arabinose und Ribose die gleichen Phenylosazone geben, können die entsprechenden Zucker nicht einzeln nachgewiesen werden. Auch vergeht bereits durch die Synthese der Osazone annähernd 1 Std., bis die Chromatographie begonnen werden kann.

Ähnlich gingen HAAS und SEIGER (72) vor, die die Osazone statt mit Kieselgur-G-Platten auf Polyamid-Platten nachwiesen. In diesem Zusammenhang ist eine Veröffentlichung von KAISER und MASER (44) interessant. Es wird darauf hingewiesen, daß die von KINA und HEMMANN empfohlene Methode "unbefriedigende Resultate" ergab. Daher versuchte man die Dünnschichtchromatographie zur direkten

Zuckernachweis im Harn anzuwenden. Auf mit 0,1 n-Borsäurelösung hergestellten Platten konnte eine Auftrennung der wesentlichen Pentosen und Hexosen erzielt werden, die im Harn vorkommen. Dieser mußte zuvor nach dem von WOLF (93) modifizierten Ionenaustauschverfahren entsalzt werden. Wie weiter berichtet wird, steigt das Fließmittel "bis beinahe zum oberen Plattenrand", was etwa 4 Std. erfordert. Die Methode nimmt also noch eine relativ lange Zeit in Anspruch.

Bei den von VOTHOW und TUCKER (89) verwendeten Cellulose-Platten sind die Laufzeiten zwar schneller als beim papierchromatographischen Verfahren, aber langsamer als auf Kieselgel-G-Schichten. Dafür lassen sich auf Cellulose größere Mengen analysieren. Zur Trennung von Glukose und Galaktose muß die Entwicklung wiederholt werden. Die aufgetragenen Mengen der verschiedenen Pentosen und Hexosen liegen zwischen 15 und 50 µg.

Auf die Schwierigkeit der Auftrennung von Glukose und Galaktose im Gemisch mit anderen Zuckern weisen auch JAGIM und MISHKIN (42) hin. Sie benutzten mit Boratpuffer behandelte Kieselgel-G-Platten und erzielten nach Wiederholung des Fließvorgangs zufriedenstellende Ergebnisse. Besondere Aufmerksamkeit war bei der Einhaltung eines genauen pH-Wertes erforderlich. Von Nachteil war jedoch, daß die uns interessierenden Zucker teilweise völlig gleiche R_F-Werte zeigten und daß die Flecken bis auf eine Ausnahme alle gleich gefärbt wurden.

Am besten wurde das Trennproblem Glukose-Galaktose wohl von WALDI (90) sowie später von WOLFROM (92) gelöst.

Ersterer trennte Gemische der wesentlichen Zucker und Zuckeralkohole auf mit Phosphatpuffer hergestellten Kieselgur-Platten. Nach dem Entwickeln und Trocknen wurden die Substanzen, von denen 5 - 25 µg aufgetragen wurden, durch zu einanderfolgende Behandlung mit mehreren Reagenzien sichtbar gemacht.

Eine quantitative Auswertung erfolgte in dieser Arbeit nicht. Sie wurde kurze Zeit später von VOMHOF, TRUITT und TUCKER (89) beschrieben. Die auf Cellulose mit Anthron markierten Flecken wurden herausgekratzt und die Zucker spektrophotometrisch bestimmt. Diese Methode ist relativ langwierig und läßt sich nur für Konzentrationen zwischen 5 - 100 µg anwenden. Ähnlich große Mengen bestimmten auch WOLFROM und Mitarbeiter (92), die mit Anilinphthalat arbeiteten. Die quantitative Zuckerbestimmung nahm insgesamt etwa 5 Std. in Anspruch.

III. Zweck der vorliegenden Untersuchung

Wie oben ausgeführt wurde in den letzten Jahren eine zunehmende Zahl von Krankheitsbildern gefunden, die auf Störungen im Kohlenhydratstoffwechsel beruhen oder mit solchen einhergehen. Da sich die in biologischem Material vorhandenen Zucker bisher größtenteils nur mit Hilfe der Papierchromatographie sicher identifizieren ließen, sollte untersucht werden, ob sich die Dünnschichtchromatographie mit ihren Vorteilen für die Erfassung solcher Melliturien erfolgreich anwenden ließ.

Wie die Literaturübersicht zeigt, lassen sich zahlreiche Methoden mit unterschiedlichem Erfolg für den Zuckernachweis verwerten. Besonders die vom Arzt ausgiebig verwandten Reduktionsproben ergaben häufig fehlerhafte Ergebnisse. So konnten u.a. zahlreiche Arzneimittel, die publiziert worden waren, ein Vorhandensein von Zucker vortäuschen. Zum anderen blieb die Reduktion bei geringen Zuckermengen häufig aus. Beim Nachweis über die Osazone wirkte sich nachteilig aus, daß verschiedene Zucker gleiche Osazone bilden können und sich daher nicht von anderen unterscheiden ließen; außerdem nahm die Umsetzung längere Zeit in Anspruch, und die Identifizierung aus Zuckergemischen war sehr umständlich. Bei sehr geringen Mengen blieb die Osazonbildung aus. Ähnliche Nachteile wies die Gärprobe auf.

Daher bedeutete die Einführung der Papierchromatographie insbesondere auch für die klinische Untersuchung von Zuckern bzw. seiner Derivate einen großen Fortschritt. Es konnten nun auch kleinere Zuckermengen aus Gemischen einwandfrei identifiziert werden. Für die Durchführung von Reihenuntersuchungen störte jedoch die Tatsache, daß die Entwicklung des Chromatogramms meistens zwischen 20 und 40 Stunden in Anspruch nahm. Damit stand das Ergebnis frühestens am nächsten Tag, häufig erst nach 2 oder gar 3 Tagen fest. Durch Anwendung der Dünnschichtchromatographie läßt sich die Arbeitszeit auf wenige Stunden reduzieren, und es können noch geringere Konzentrationen nachgewiesen werden, wie die bisher auf diesem Gebiete ausgeführten Arbeiten zeigen.

Die Aufgabe dieser Arbeit sollte zunächst darin bestehen, alle im Harn vorkommenden Zucker mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie nachzuweisen. Bereits [illegible] und [illegible] (44) konnten so klinisch wichtige Zucker in biologischem Material auftrennen. Bei den Versuchen der vorliegenden Arbeit sollte nun die Anzahl der interessierenden Zucker vergrößert werden und gleichzeitig ein eventuelles Auftreten von Hexuronsäuren festgestellt werden. Auch sollte durch Variation des Fließmittels und des Sorptionsmittels versucht werden, den Fließvorgang vorteilhaft zu beeinflussen; insbesondere sollte wert darauf gelegt werden, die Arbeitszeit von [illegible] std. zu reduzieren und den qualitativen sowie quantitativen Nachweis der Zucker noch empfindlicher zu gestalten, so daß bereits Zuckermengen von 0,5 µg dargestellt werden konnten.

Die Methode sollte also so ausgebaut werden, daß sie in kürzester Zeit brauchbare Ergebnisse beim qualitativen und quantitativen Nachweis der im Harn pathologisch und physiologisch vorkommenden Zucker unter Berücksichtigung der Hexuronsäuren lieferte, so daß die Dünnschichtchromatographie neben der klinischen Forschung ohne große Aufwendung auch in der Praxis durchführbar sein konnte. Insbesondere sollte auf eine einwandfreie Trennung von Glukose und Galaktose sowie Arabinose und Fruktose hingearbeitet werden, deren Auftrennung bisher meist Schwierigkeiten bereitete. Weiterhin ist es von Vorteil, mit einem einzigen Reagenz alle Zucker auf einer Platte zu erfassen und dabei möglichst unterschiedliche Färbungen auf einer

einzigen Platte zu erzielen, um damit neben den R_F-Werten ein weiteres diagnostisches Kriterium zu besitzen. Es war geplant, zu Beginn die Methode an Zuckergemischen ohne Beimengung von Fremdsubstanzen zu erproben, um sie dann bei der Untersuchung biologischer Flüssigkeiten anzuwenden.

Als Beurteilungsgrundlage für die Erfassung von Melliturien sollten zahlreiche Urine gesunder Kinder vom 1. Lebensjahr bis zum vollendeten 14. Lebensjahr untersucht werden, um so einen näheren Einblick zu erlangen, in welchem Alter es besonders häufig zur Zuckerausscheidung kommt, um welche Zucker es sich dabei handelte und in welcher Größenordnung sich die ausgeschiedenen Mengen bewegten. Die Ergebnisse, an nüchternen Kindern erzielt, konnten im Anschluß daran mit der Zuckerausscheidung nach Belastung verglichen werden.

Schließlich war es das Ziel dieser Arbeit, die bei Melliturien ausgeschiedenen Zucker qualitativ und quantitativ nachzuweisen, so daß mit Hilfe dieser Untersuchungen Rückschlüsse auf die vorliegenden Krankheiten gezogen werden konnten. Außerdem war es interessant, die mit anderen Methoden erzielten Resultate ähnlicher Arbeiten mit unseren Werten zu vergleichen, die damit erstmals dünnschichtchromatographisch erbracht werden sollten.

IV. Eigene Methodik

Wie bereits beschrieben, sind verschiedene Arten der Dünnschichtchromatographie möglich. Wir bedienen uns der

zu steigernden Methode. Zur Herstellung einer dünnen Sorptionsschicht von 250 µ Dicke verwenden wir das von STAHL entwickelte Streichgerät, das von DESAGA hergestellt wird. Es dient zur Aufnahme der dünnflüssigen Streichmasse (30 g Sorptionsmittel und 60 cm³ Flüssigkeit für 5 Platten) und zum gleichmäßigen Auftragen der Masse auf die Glasplatten. Das Gerät wird links auf die Begrenzungsplatte einer Schablone aufgesetzt und läßt sich dann mühelos über die fünf 2 x 20 cm großen, gut gereinigten Glasplatten ziehen, die zuvor auf die Schablone gelegt wurden. Anschließend werden die bestrichenen Platten zum Trocknen in ein heizbares Luft-Trockengestell gelegt. Nach 12-stündigem Trocknen an der Luft sind sie gebrauchsfähig. Werden die Platten nicht sogleich benötigt, kann man sie in einem Exsiccator bis zu ihrer Verwendung aufheben.

Vor dem Auftragen der Zucker - Hexuronsäure - Gemische wird die Sorptionsschicht der Dünnschichtplatten in Streichrichtung auf beiden Seiten etwa 1 cm breit entfernt. Dies ist notwendig, um störende Randphänomene zu umgehen. Mit Hilfe von Mikropipetten werden je 10 µl der zu untersuchenden Lösungen senkrecht zur Streichrichtung gerade aufgetragen, daß die Startpunkte etwa 1,5 cm vom unteren Rand entfernt sind und zwischen ihnen ein Abstand von je 1 bis 1,5 cm erhalten bleibt. Die zwei Platten werden dann in zuvor gründlich gereinigte und mit 100 ml Fließmittel gefüllte Kammern eingebracht. Es muß darauf geachtet werden, daß die markierten Startpunkte nicht in die Flüssigkeit eintauchen, da sich sonst ein Verlust von Analysenmaterial

ergibt.

Wir benutzen 21 x 21 x 9 cm große Glaskammern mit breitem Wulstrand, die durch planaufgeschliffene Ganzglasdeckel dicht abschließen und damit ein Entweichen des Fließmittels verhindern. Bei dieser Anordnung sind die Kammerwände U-förmig mit Filterpapier auszukleiden, um eine ausreichende Sättigung und damit einen gleichmässigen Lauf zu erzielen. Die Platten werden nach etwa 45 Minuten herausgenommen, wenn die aufsteigende Fließmittelfront die vom Startpunkt aus gemessene und gekennzeichnete Höhe von 15 cm erreicht hat. Nach kurzem Trocknen an der Luft werden die Platten nochmals in die Kammern gestellt und wiederum nach einer Laufstrecke von 15 cm herausgeholt. Die an der Luft getrockneten Platten färbt man mit dem vorgeschriebenen Sprühreagenz an und gibt sie für 10 Minuten in einen vorgeheizten Trockenschrank von 115°. Zur Darstellung kommen nun die getrennten Zucker und Hexuronsäuren des Gemisches, die sich durch die zu messenden R_F-Werte und im allgemeinen auch durch die Färbung unterscheiden.

1) Reine Zuckerläufe (Ergebnisse):

Wir versuchten als erstes reine Zuckerlösungen von bekannten Konzentrationen zu identifizieren, um die Ergebnisse später zur Trennung von Zuckern im Urin zu verwerten. Kieselgel-G-Schichten, so wird in der Literatur angeführt (66), eignen sich zur Auftrennung von Zuckergemischen. Daher wurden die Versuche auf Platten durch-

geführt, die aus Kieselgel-G und Wasser, später aus Kieselgel-G und 0,1 n-Borsäurelösung hergestellt wurden. Im letzteren Fall wurden also die Trennungen in einem schwach sauer reagierenden Medium vorgenommen. Nach STAHL wurden als Fließmittel mehrere Gemische aus Benzol - Eisessig - Methanol (20+2+10), Methyläthylketon - Eisessig - Methanol (60+2+20) und Butanol - Aceton - Wasser (40+50+10) benutzt. Die übrigen Lösungen, deren Konzentrationen zwischen 5mg% und 100mg% betrugen, enthielten die im Urin vorkommenden Zucker in jeweils gleichen Mengen: Laktose, Saccharose, Galaktose, Glukose, Fruktose, Arabinose, Xylose, Ribose, Rhamnose und ebenfalls die seltener auftretenden Hexuronsäuren Glukuron- und Galakturonsäure.

Der Nachteil dieser angewandten Methode lag darin, daß sich vor allem Glukose und Galaktose häufig nicht trennten und auch die anderen Zucker teilweise sehr ähnliche R_F-Werte ergaben. Im Anschluß daran durchgeführte Versuchsreihen, in denen teilweise die von STAHL und KALTENBACH erzielten Ergebnisse berücksichtigt wurden, ergaben die gewünschten Trennungen. Es wurden ebenfalls Kieselgur-G-Platten benutzt, die mit 0,02 m-Natriumacetatlösung hergestellt worden waren. Dieser Salzzusatz verändert das Milieu, indem die Adsorptions- und Verteilungsvorgänge auf einer basisch reagierenden Sorptionsschicht ablaufen. Als Fließmittel wurden Essigsäureäthylester - Isopropanol - Wasser (65+23+12) verwandt, ein Gemisch, das mit den zu trennenden Substanzen keine chemischen Reaktionen eingeht und für die Chromatographie polarer Stoffe geeignet ist. Die Lauf-

strecke beträgt 15 cm; der Fließvorgang wird wiederholt, wodurch sich eine bessere Trennung als bei einem einmaligem Lauf ergibt.

Als sehr wesentlich stellte sich heraus, daß die aufgetragenen Zuckergemische nicht in Wasser sondern in Pyridin zu lösen sind. Die Konzentrationen von 5 mg% - 100 mg% behielten wir bei. Die Zuckerlösungen wurden im Kühlschrank aufbewahrt und alle zwei Monate erneut hergestellt, da sie nicht länger haltbar sind.

Nach dem Entwickeln und Trocknen der Platten, verwandten wir zur Sichtbarmachung der einzelnen Zucker Naphtoresorcin und Phosphorsäure (80+8) als Sprühmittel, bei deren Verwendung charakteristischere Färbungen als mit Anisaldehyd - Schwefelsäure erzielt wurden.

Der trennbare Bereich der Zuckerlösungen ist für eine Konzentration von 5 mg% - 100 mg% gegeben. Glukose und Galaktose trennen sich ab 10 mg%. Bei einer Konzentration der übrigen Zucker unter 5 mg% ist die Färbung zu schwach, um eine quantitative Aussage im Vergleich zu einer Lösung unbekannten Zuckergehaltes machen zu können. Über 100 mg% ist eine Auswertung infolge ungenügender Trennung nicht mehr möglich.

Die von den einzelnen Zuckern hervorgerufenen Farbunterschiede und ihre RF-Werte ermittelt aus 50 Versuchen sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt: eine Streubreite von o,1 ist möglich.

$$\text{RF-Wert} = \frac{\text{Entfernung der Substanz vom Startpunkt}}{\text{Entfernung der Fließmittelfront vom Startpunkt}}$$

Zucker	R-Wert	Farbe
Hexuronsäure	0,140	tiefblau
Laktose	0,157	hellblau
Saccharose	0,246	violett
Galaktose	0,373	blau-grün
Glukose	0,430	blau-hellblau
Fruktose	0,540	rot
Arabinose	0,603	blau
Xylose	0,716	blau
Ribose	0,805	tiefblau
Mannose	0,904	grün

2) Trennung von Zuckern in Urinproben:

Die Auftrennung von Zuckern im Urin erfolgte auf den bereits beschriebenen, mit Natriumacetat gepufferten Kieselgur-G-Schichten. Vor dem Auftragen der Urine wurden diese entsalzt, denn häufig zeigten sich bei der Dünnschichtchromatographischen Untersuchung nur ungenügende Trennungen der Zucker durch vorhandene Salzbeimengungen im Urin. Dabei wurde nach dem von PAUSHKIN (63) und WERTZ (64) beschriebenen und von MOORE (95) modifizierten Ionenaustauschverfahren vorgegangen: Bio-Deminrolit, ein Mischbettkunstharz, wird $^1/_4$ Std. in mit Kohlendioxid gesättigtem aqua dest. geschüttelt, dann das feuchte Harz zur Entsalzung benutzt. Es wurde soviel Austauscherharz in ein ca. 10 ml fassendes Zentrifugenröhrchen gegeben, daß dieses etwa 1 cm hoch gefüllt war. Das

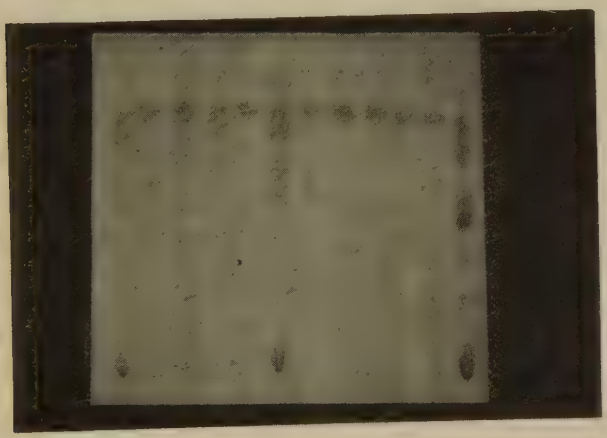
Harz wurde dann mit 1 ml Urin versetzt, das Gemisch einige Minuten gut geschüttelt und zentrifugiert, worauf die überstehende Flüssigkeit sowohl von anorganischen Anionen als auch von Kationen praktisch frei war, ohne Zucker verloren zu haben.

Je 10 ul des entsalzten Urins wurden auf die Startmarken 2, 3, 4, 5 und 7, 8, 9, 10, 11 aufgetragen und zur Kontrolle des genauen Laufes jeweils 10 ul Ribose einer 50 mg% Lösung zugegeben. (Die erwähnten Startmarken 1 - 12 sind aus dem nachstehenden Foto zu entnehmen). Bei jedem Chromatogramm werden zusätzlich 3 Testzuckergemische steigender Konzentration aufgetragen, um qualitative und quantitative Vergleichsmöglichkeiten zu haben: je 10 ul eines Zuckergemisches von je 10 mg% auf Marke 1, von 20 mg% auf Marke 6 und von 60 mg% auf Marke 12. Diese Konzentrationen entsprechen den am häufigsten im Urin vorkommenden Zuckerkonzentrationen und geben die beste Vergleichsmöglichkeit für die zwischen diesem Bereich liegenden Konzentrationen. Ribose und die Testzuckergemische wurden in Pyridin gelöst. Jedes Zuckergemisch enthielt Hexuronsäure und die Zucker Laktose, Saccharose, Galaktose, Glukose, Fruktose, Arabinose, Xylose, Ribose und Rhamnose. Die so vorbereiteten Dünnschichtplatten wurden dann nach der bereits bei meinen Zuckerkurven beschriebenen Methode entwickelt.

Nach Sichtbarmachung der Zucker wurden die Auswertungen der Urine vorgenommen. Durch die verschiedenartigen Färbungen, Farbintensität und die verschiedenen R_F-Werte ist es möglich, qualitative und quantitative Rückschlüsse im

Vergleich zu den Flecken der Testzuckerlösungen zu ziehen. Die Ergebnisse der Versuche wurden jeweils mit den Auswertungen der Papierchromatographie verglichen und stimmten bis auf kleine Abweichungen stets überein. Diese liegen darin, daß Fruktose und Saccharose bereits bei einer Konzentration von 5 mg% (Papierchromatographie ab 40 mg%) deutlich sichtbar werden. Urine, die nicht sofort untersucht werden können, bewahrt man am besten unter Zusatz von Thymol im Kühlschrank auf.

Das unten abgebildete Foto zeigt die erfolgreiche Auftrennung der reinen Zuckergemische neben einigen Urinen:



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Nr. 1, 6, 12 sind Testzuckergemische mit zunehmender Konzentration von 10, 20 und 60 mg%

von unten nach oben stellen die Flecke folgende Zucker dar:

Hexuronsäure (blau), Laktose (hellblau), Saccharose (violett), Galaktose (blaugrün), Glukose (hellblau - blau), Fruktose (rot), Arabinose (blau), Xylose (blau), Ribose (blau), Rhamnose (grün).

Nr. 2 - 5 und 7 - 11 sind die zu untersuchenden Urine, bei denen der oberste Fleck Ribose darstellt, die zur Kontrolle einer vergleichbaren Laufgeschwindigkeit zugesetzt wird.

Nr.	Erkrankung	Zuckermengen in mg%
2	Cystinose	Glukose(50) Fruktose(10)
3	Krampfleiden	Galaktose(20)
4	Krampfleiden	Arabinose(10) Xylose(10)
5	Krampfleiden	∅
7	Dysproteinämie	Laktose(40) Saccharose(20) Fruktose(20) Arabinose(10)
8	Dystrophie	Saccharose(5) Fruktose(5)
9	Oligophrenie	Saccharose(5) Glukose(10) Fruktose(5)
10	LOWE-Syndrom	Laktose(30) Glukose(10) Fruktose(10)
11	Erythroblastose	Laktose(40)

(Einige Farbflecke, insbesondere Laktose, kommen auf Originalchromatogrammen wesentlich deutlicher zur Darstellung als auf dem Farbfoto).

V. Die physiologischen Zuckerausscheidungen im Kindesalter

Um überhaupt von einer pathologischen Mellituric sprechen zu können, muß zunächst bekannt sein, ob unter normalen Bedingungen bei einem stoffwechselgesunder Neugeborenen, Kleinkind oder Schulkind bei altersgemäßer Ernährung ein oder mehrere Zucker ausgeschieden werden und wie hoch die ausgeschiedene Menge an Zucker sein darf, um sie noch als physiologische Ausscheidung betrachten zu können. Zunächst wurde daher die Zuckerausscheidung in 20 Urinen (nach der Mittagsmahlzeit) von Neugeborenen im Alter bis zu 10 Tagen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie festgestellt. Im Durchschnitt lag die gesamte Zuckerkonzentration bei 31 mg% und teilte sich in 6,5 mg% Laktose, 10 mg% Saccharose, 8 mg% Glukose, 4 mg% Fruktose und in Spuren von Galaktose sowie Arabinose auf.

Im Anschluß daran verglichen wir die Zuckerkonzentrationen dieser Säuglinge mit den Werten, die in je 10 Urinen von Säuglingen im Alter von 10 Tagen bis zu 3 Monaten und von Säuglingen im Alter von 3 Monaten bis zu 6 Monaten gefunden wurden. Die durchschnittlich ausgeschiedene Menge an Zuckern im 1. Trimenon betrug 29 mg% und setzte sich zusammen aus 4,5 mg% Laktose, 5,5 mg% Saccharose, 15,5 mg% Glukose und Spuren von Galaktose sowie Fruktose. Während des 2. Trimenons fielen die Werte auf 11,5 mg% ab: 6 mg% Saccharose, 4,5 mg% Fruktose und Spuren anderer Zucker. In der nächsten Altersstufe von 6 - 12 Monaten beobachteten wir die Zuckerausscheidung in 10 weiteren Urinen. Die Zuckermenge dieses zweiten Lebenshalbjahres stieg weiter

auf 20,5 mg% an: 7 mg% Glukose, 9,5 mg% Fruktose, 3 mg% Saccharose und Spuren von Laktose. Es wurden Urine von Säuglingen im Alter von 10 Tagen bis zu 12 Monaten gesammelt; die Entnahme begann eine halbe Stunde nach der Mittagsmahlzeit.

2 - 14-jährige Kinder wurden in 2 Altersgruppen eingeteilt: Kleinkinder bis zu 5 Jahren und Schulkinder von 6 - 14 Jahren. Zur Untersuchung kamen aus jeder der beiden Altersgruppen je 10 Nuchternurine. 5 Kinder im Alter von 2 - 5 Jahren und 5 Schulkinder wurden außerdem morgens nüchtern mit einem Zuckergemisch belastet. Dieses setzte sich aus 20 g Glukose, 4 g Galaktose, 15 g Fruktose, 4 g Laktose und 10 g Saccharose zusammen, das in reichlich dünnem schwarzen oder Pfefferminztee oder aber in Wasser mit etwas Zitrone gereicht wurde. In etwa 10 Min. tranken die Kinder 1 - 2 Tassen der Zuckerlösung. Nachdem $^1/_2$ - 1 Std. vergangen war, begannen wir die Urine zu sammeln. Zweck der Belastung war festzustellen, ob die Zuckerausscheidung jeweils von den einzelnen in der Nahrung befindlichen Zuckern abhängig ist.

Die Ergebnisse wurden anhand der Konzentrationen der Nüchternurine dieser Kinder verglichen. Bei Kleinkindern befand sich ein Zuckergehalt von 9 mg% (5mg% Saccharose, je 1mg% Laktose und Glukose, 2mg% Fruktose und 2mg% Xylose) im Nüchternurin. Nach Belastung stieg der Wert auf 58 mg% an (4mg% Laktose, 30mg% Saccharose, 3mg% Galaktose, 10mg% Glukose und 11mg% Fruktose).

Ähnlich verhielten sich die Werte bei Schulkindern:

10 mg% Zucker im Nüchterurin und 40 mg% nach Belastung, nämlich 3 mg% Laktose, 12 mg% Saccharose, 4 mg% Galaktose, 11 mg% Glukose und 10 mg% Fruktose. Aus der Auswertung der Versuche geht hervor, daß sich während der ersten 10 Lebenstage und der ersten 3 Lebensmonate die Zuckerkonzentrationen durchschnittlich um 30 mg% bewegen und dann auf Werte von 10 mg% absinken. In allen weiteren Altersstufen wird die Konzentration von 10 mg% beibehalten.

Die einzelnen Ergebnisse dieser Reihenuntersuchungen sind aus den Tabellen I - VII zu ersehen.

VI. Pathologische Melliturien

Nicht nur bei gesunden sondern auch bei erkrankten Kindern wurde eine Untersuchungsreihe aufgestellt. 150 Urine von Neugeborenen bis zu Patienten von 14 Jahren wurden auf Zucker mit der dünnschichtchromatographischen Methode analysiert. Bei 28 Patienten stellte sich dabei eine pathologische Melliturie heraus. 12 Fälle von Glukosurie (maximale Ausscheidung von 1 g%) und 8 Fälle von Laktosurie (maximale Ausscheidung von 400 mg%). 4 Kinder hatten eine Fruktosurie und 4 weitere eine Saccharosurie. Nur bei einem Kind trat eine Galaktoseausscheidung von 40 mg% auf. Die einzelnen Zuckerkonzentrationen bei den jeweiligen Erkrankungen sind in den Tabellen VIII - X wiedergegeben.

Tab. I

Säuglinge (1. - 10. Tag)

- Zuckermengen in mg% -

No.	Alter	Ernährung	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Arabinose	Gesamt. Zucker
1	1 Tag	Muttermilch + Pelargon = 30g		5				10	15
2	2 Tage	Tee + 5 % Nährz. = 30g	10	20	10	10	10		60
3	2 Tage	Pelargon = 30g		10		10	5		25
4	2 Tage	Tee + 5 % Nährz. = 30g					5		5
5	3 Tage	Muttermilch + Pelargon = 40 g	10	50		10			70
6	3 Tage	Pelargon = 40 g	10	10		30	5		55
7	3 Tage	Muttermilch + Pelargon = 40g	20	10					30
8	4 Tage	Muttermilch = 50g				20	20		40
9	5 Tage	Muttermilch = 80g			30				30
10	5 Tage	Muttermilch + Pelargon = 70g	20	20		5	5		50
11	5 Tage	Muttermilch + Pelargon = 70g	10	20		10			40
12	6 Tage	Pelargon = 60g							0
13	6 Tage	Muttermilch = 70g	10			10			20
14	6 Tage	Muttermilch = 70g		5		40			45
15	7 Tage	Pelargon = 60g		10		10			20
16	8 Tage	Pelargon = 90g	10	20			10		40
17	8 Tage	Muttermilch = 60g	30	10			5		45
18	8 Tage	Muttermilch = 80g							0
19	9 Tage	Muttermilch = 90g			5	5	15		25
20	10 Tage	Muttermilch = 100g		10					10
		Mittelwerte →	6,5	10	2,25	8	4	0,5	31,25

Tab. II

Kinder - 10.Tag - 3.Monat -

- Zuckermengen - in mg% -

- Urin 1/2 Std. nach Mittagsmahlzeit -

No.	Alter	Ernährung	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Ges.-Zucker
1	10 Tage	Muttermilch = 70g	10	10		30		50
2	12 Tage	Muttermilch + Pelargon = 100g	10	5	10	10	5	40
3	3 Wochen	Muttermilch + Pelargon = 100g		5				5
4	3 Wochen	Muttermilch + Pelargon = 100g		5		20		25
5	3 Wochen	Muttermilch = 100g	5			10		15
6	3 Wochen	Muttermilch + Milumil = 100g				10		10
7	5 Wochen 5 Tage	Pelargon = 125g	10	10	5	15	5	45
8	6 Wochen	Muttermilch + Milumil = 125g						0
9	2 Monate 3 Wochen	Pelargon = 150g	10	10				20
10	2 Monate 3 Wochen	Muttermilch + Pelargon = 120g		10		60	10	80
		Mittelwerte →	4,5	5,5	1,5	15,5	2	29

Tab. III

Kinder - 3. - 6.Monat -

- Urin 1/2 Std. nach Mittagsmahlzeit -

- Zuckermengen - in mg% -

No.	Alter	Ernährung	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Ges.-Zucker
1	3 Monate	Pelargon = 160g						0
2	4 Monate	Pelargon + Arobon 2%						0
3	4 Monate	2/3 Milch + Citro - Semolin + Karotten						0
4	4 Monate	Pelargon + Spinat + Orangensaft						0
5	5 Monate	Pelargon + Vollmilchbrei + Spinat						0
6	5 Monate	Pelargon + Vollmilchbrei + Möhrensaft						0
7	5 Monate	Pelargon + Milchbrei + Karotten		40			30	70
8	6 Monate	Milchbrei + Banane		10			10	20
9	6 Monate	Pelargon + Vollmilchbrei + Orangensaft		10			15	25
10	6 Monate	Pelargon + Vollmilchbrei + Spinat						0
		Mittelwerte →	0	6	0	0	5,5	11,5

Tab. IV

Kinder 6. - 12.Monat

- Zuckermengen - in mg% -

- Urin 1/2 Std. nach Mittagsmahlzeit -

No	Alter	Ernährung	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Ges.-Zucker
1	7 Monate 2 Wochen	Milchbrei + Banane				5	10	15
2	8 Monate	Pelargon + Zwieback-bananebrei				10		10
3	9 Monate	2/3 Milch + Zwieback-brei + Spinat + Kartoffeln						0
4	9 Monate	Vollmilch + Zwieback-brei + Karotten + Kartoffeln	10			15	5	30
5	9 Monate	Vollmilchbrei + Spinat + Kartoffeln						0
6	9 Monate	Vollmilchbrei + Spinat + Kartoffeln						0
7	9 Monate 2 Wochen	Vollmilchbrei + Banane		20		40	40	100
8	10 Monate	Zwiebackbrei + Spinat + Kartoffeln						0
9	11 Monate	Vollmilchbrei + Banane		10			40	50
10	12 Monate	Zwiebackbrei + Spinat+ Kartoffeln						0
		Mittelwerte →	1	3	0	7	9,5	20,5

Tab. V

Kinder 2. - 14. Jahr

- Nüchternurin - - Zuckermengen in mg% -

No.	Alter	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Xylose	Ges.-Zucker
1	2 Jahre 8 Monate							0
2	4 Jahre							0
3	5 Jahre				5	5		10
4	5 Jahre 1 Monat				10			10
5	5 Jahre 10 Monate		5		5	5	10	25
6	8 Jahre 6 Monate		5		5	5		15
7	8 Jahre 7 Monate					10		10
8	9 Jahre		5					5
9	10 Jahre				5			5
10	11 Jahre 5 Monate							0
Mittelwerte →		0	1,5	0	3	2,5	1	8

Tab. VI

Kinder 2. - 5.Jahr

- Zuckermengen in mg% -

	No.	Alter	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Xylose	Ges.-Zucker
nüchtern	1	4 Jahre							0
belastet[x]				80		20	30		130
nüchtern	2	5 Jahre		5				10	15
belastet				10	10	10			30
nüchtern	3	5 Jahre 4 Monate							
belastet							10		10
nüchtern	4	5 Jahre				5	10		15
belastet			10	40		10	10		70
nüchtern	5	5Jahre	5	10					15
belastet			10	20	5	10	5		50
Mittelwerte → nüchtern			1	3	0	1	2	2	9
belastet			4	30	3	10	11	0	58

[x] Zusammensetzung der oralen Zuckerbelastung s. Text S. 52

Tab. VII

Kinder 6. - 14.Jahr

- Zuckermengen in mg% -

	No.	Alter	Laktose	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	Arabinose	Xylose	Ges.-Zucker
nüchtern	1	6 Jahre 8 Monate		5			5		10	20
belastet				10			15			25
nüchtern	2	7 Jahre				10	5			15
belastet			5	10	5	20	10			50
nüchtern	3	8 Jahre								0
belastet				5	5	10				20
nüchtern	4	8 Jahre 8 Monate		5			5	5		15
belastet			10	30	10	10	20			80
nüchtern	5	13 Jahre								0
belastet				5		15	5			25
Mittelwerte →		nüchtern	o	2	0	2	3	1	2	10
		belastet	3	12	4	11	10	0	0	40

Tab. VIII

Glukosurien

- Zuckermengen in mg% -

a. renale Glukosurie

No.	Saccharose	Galaktose	Glukose	Fruktose	verschied. Zucker
1			3g%		
2	10		400		
3	10		100	40	20 Hexuronsäure

b. Cystinose

1			300		
2			50		
3			60		
4			40	10	

c. MIESCHER - Syndrom II

1			1,5g%		

d. LOWE - Syndrom

1	5	10	80	10	
2			70	10	15 Laktose

e. Nierenmißbildungen

1		30	90		
2		10	60		

Tab. IX Laktosurien

- Zuckermengen in mg% -

a. Dyspepsie

No.	Saccharose	Laktose	Galaktose	Glukose	verschied. Zucker
1		400			
2		90	10	10	30 Fruktose

b. Hiatushernie

1		60	20	20	

c. Erythroblastose

1		60	15	10	

d. Krampfleiden - Retardierung

1		90			
2		75			
3		70	10	10	10 Arabinose

e. Dystrophie

1		90	15	20	60 Fruktose 10 Xylose

Tab. X

Fruktosurie

- Zuckermengen in mg% -

a. Retardierung

No.	Saccharose	Laktose	Glukose	Fruktose	verschied. Zucker
1	30		30	130	
2			20	60	20 Xylose

b. Nierenmißbildung

1			30	90	30 Galaktose

c. Dystrophie

1		30	20	60	10 Xylose

Saccharosurie

a. Hepatomegalie

1	180	60			

b. Gedeihstörung

1	100				

c. Acidose

1	90				

d. Schwachsinn

1	60				

Galaktose

Mißbildungen

1		30			40 Galaktose

VII. Vergleich der eigenen Befunde mit der Literatur.

Nur wenige Arbeiten sind bisher über die physiologische Zuckerausscheidung im Kindesalter veröffentlicht worden. HOENIGER und NOTHMANN (38, 61) beobachteten eine Zuckerausscheidung im Urin von Neugeborenen und erkannten, daß diese rein physiologisch ist. Zwei Jahre später, 1913, bestätigte RIETSCHEL (74) diese Tatsache. HAGEMANN fand im Urin während der ersten Lebenswoche Zucker, bei denen es sich um Laktose, Galaktose, Glukose und Spuren von Xylose handelte. In den letzten Jahren führten ACCLE und ARTHORP (93) die Untersuchungen bei Säuglingen fort und fanden außer den bereits erwähnten Zuckern noch Fruktose.

Auch wir stellten während der ersten 10 Lebenstage eine erhöhte Zuckerkonzentration im Urin fest. Im Durchschnitt wurden 51 mg% ausgeschieden. Laktose und Glukose nahmen dabei neben Galaktose, Saccharose und Fruktose den Hauptanteil ein. Die Fruktosewerte lagen bei 20 mg%, die von Laktose bis zu 50 mg% und die von Glukose stiegen gar bis zu 40 mg% an. Von 20 Säuglingen (1. - 10. Tag) schieden 9 Laktose und 11 Glukose aus. Aus papierchromatographischen Arbeiten von BICKEL (8) geht hervor, daß die Laktoseausscheidung innerhalb der ersten 10 Tage sogar einmal bis zu 120 mg% ansteigen kann. Als Ursache der vermehrten Ausscheidung dieses Zuckers beim jungen Säugling vermutete er eine Unreife der Laktose - Fermentwirkung im Dünndarm und auf eine erhöhte Darmwandpermeabilität. Der Mechanismus der Glukosurie ist gewiß renal, der der Fruktosurie und Galaktosurie vermutlich hepatogen. Bei den Untersuchungen

von BICKEL (8) lagen die Glukosewerte bei 25 mg% und das Maximum von Fruktose bei 70 mg%. Im Durchschnitt liegt die Konzentration für die Gesamtzuckerausscheidung etwas höher als bei den eigenen Versuchen, nämlich bei 45 mg%. In seiner Arbeit wird weiter darauf hingewiesen, daß bei Frühgeburten noch höhere Konzentrationen beobachtet wurden.

Kinder vom 10. Lebenstag bis zum 3. Monat einschließlich schieden nach unseren Ergebnissen noch 29 mg% aus. In allen weiteren Altersstufen bleibt die Konzentration von 10 mg% bestehen. In der Arbeit von BICKEL (8) wird bereits ein Abfall nach den ersten 10 Lebenstagen auf nur wenige mg% angegeben; es wird aber erwähnt, daß eine leicht erhöhte Zuckerausscheidung während der folgenden Monate bestehen bleiben kann.

Die eigene Arbeit ergab eine starke Abhängigkeit der Zuckerausscheidung von der Nahrung bei Belastungen an 10 Kindern. Enthielt ihr Nüchternurin etwa 10 mg%, so stieg $^1/_2$ Std. nach der Belastung der Wert auf 58 mg% an. In der Mehrzahl der Fälle wurden 2, 3 oder gar alle 5 der verabreichten Zucker ausgeschieden. Aus den papierchromatographischen Untersuchungen sowohl von BICKEL (8) als auch von EBEHL (19) geht hervor, daß viele nur mit geringen Zuckermengen belastete, gesunde Kinder Zucker ausscheiden. Früher hatte man irrtümlicher Weise geglaubt, große Zuckermengen seien notwendig, damit eine geringfügige Melliturie entstünde. v. MOOR EN (60) und ISAAC (41) berichteten, daß erst nach einer oralen Aufnahme von 580 g, Zucker im Urin beobachtet würden. v. MOOR EN verabreichte 120 g Laktose,

150 g Saccharose, 150 g Glukose, 120 g Fruktose und 40 g Galaktose. Noch 1949 und 1954 wurden von BÜRGER (14) bzw. von BREUSCH (12) die Angaben von ISAAC (41) bestätigt. Im Gegensatz dazu bieten die 1926 von KAHN (43) angegebenen Werte eine bessere Vergleichsmöglichkeit mit den in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnissen. Bei Kindern vom 2. Lebensjahr an ermittelte er als Mindestmenge zur Auslösung einer Glukosurie 50 g Glukose; dieser Wert entspricht unserem Wert von 20 g am ehesten. Die Werte aller anderen Zucker zur Auslösung einer Melituric liegen in der Literatur, mit einer Ausnahme der von BICKEL (8), viel höher als die von uns gefundenen, was mit großer Wahrscheinlichkeit auf die weniger sensiblen Nachweismethoden der früheren Autoren zu erklären sein dürfte.

Alle Kinder, bei denen eine pathologische Melliturie diagnostiziert wurde, litten an Krankheiten, die auch in der Literatur mit Zuckerausscheidungen als Haupt- oder Begleitsymptom beschrieben werden.

VIII. Zusammenfassung

Die angegebene Methode der Dünnschichtchromatographie bietet sich für Klinik und Praxis als ein geeignetes und schnelles Verfahren zur Analyse von Zuckern im Urin an. Die Gesamtzeit zur Auftrennung der Zucker im Harn beträgt nur $2\,^1/_2$ Stunden: $^1/_2$ Stunde für das Auftragen der Substanzen auf die mit Natriumacetat gepufferten Kieselgur-G-Dünnschichtplatten, $1\,^1/_2$ Stunden für den zweimaligen Fließ-

vorgang über jeweils 15 cm mit Essigsäureäthylester - Isopropanol - Wasser (65+23+12) als Lösungsmittel und $^1/_2$ Stunde für die Anfärbung der Platten mit Naphtoresorcin - Phosphorsäure einschließlich Trocknen. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß mit einem Sprühreagenz alle im Harn vorkommenden Zucker dargestellt werden können. So ist es möglich, bereits die Auswertungen der Urine nach kurzer Zeit vorzunehmen.

Auf jeder Platte können mindestens 9 Urine untersucht werden. Eine deutliche Identifizierung von Saccharose, Fruktose, Arabinose und Xylose ist schon bei der Konzentration von 5 mg%, von Glukose und Galaktose bei 10 mg% möglich. Das Maximum der Trennung liegt bei Konzentrationen von 100 mg%. Im allgemeinen bewegen sich auch die Konzentrationen der Zucker im Urin in diesem Bereich. Bei höheren Konzentrationen ist der Urin mit Wasser zu verdünnen, da sonst nur eine unzureichende Trennung zu erzielen ist. Bei allen diesen Versuchen wird dem Urin als Vergleichssubstanz eine Lösung von Ribose in Pyridin zugesetzt, und in Parallelläufen werden reine Zuckergemische verschiedener Konzentration mitentwickelt.

Bei Reihenuntersuchungen ergab sich, daß gesunde Neugeborene im Alter von 1 - 10 Tagen durchschnittlich 31 mg% Zucker im Urin ausschieden; bei Säuglingen (10. Tag - 3. Monat) wurden noch 29 mg% gefunden und ab 3. Monat bis zu 14 Jahren waren konstant 10 mg% nachzuweisen.

Auf Grund von Belastungen (20g Glukose, 4g Galaktose, 15g Fruktose, 4g Laktose und 10g Saccharose) an Kindern

im Alter von 2 - 14 Jahren stieg die Zuckerausscheidung auf 58 mg% (2 - 5 Jahre) und auf 40 mg% (6 - 14 Jahre). Bei Untersuchungen von 150 Urinen erkrankter Kinder konnten 28 pathologische Melliturien beobachtet werden, nämlich 12 Glukosurien, 8 Laktosurien, 4 Fruktosurien und 4 Saccharosurien.

Literaturverzeichnis

1. ALLEN, Th. u. M. VEIT: Untersuchungen zur Standardisierung des D-Xylose Absorptions-Tests in der Kinderheilkunde, Zschr. für Kinderheilk. 97, 75 (1966)

2. BACH, H.G. u. H.v.BEYER: Die Ausscheidung von Glukose im Urin bei normaler Schwangerschaft. Dtsch. med. Wschr. 38, 1673 (1966)

3. BARNES, H.J. and B.M. BLOOMBERG: Paper chromatography of the urinary sugar in essential pentosuria. South African J.Med.Sci. 18, 93 (1953)

4. BARRY, V.C. and P.W.D. MITCHELL: Properties of periodate-oxidised polysaccharides. J.Chem.Soc. 4023 (1954)

5. BICKEL, H.: Neuere Erkenntnisse zur hepatocerebralen Degeneration (WILSONsche Krankheit) Mod.Probl. Paediat. 3, 215 S. Karger, Basel/New York (1957)

6. BICKEL, H.: Zur klin. Bedeutung verschiedener Mellituarien Mod.Probl.Paediat. 4, 136 S. Karger Basel/ New York (1959)

7. BICKEL, H.: Die nicht diabetischen Melliturien des Kindes Mod.Probl.Paediat. 6, 315 S. Karger, Basel/New York (1960)

8. BICKEL, H.: Melliturie, a paper chromatographic study J. of Pediatrics 5, 640 (1961)

9. BILEN, F.S. and I.A. TURNER: Studies of carbohydrate and fat absorption from normal and diseased

intestine in man. Absorption and excretion of l-Xylose. Gastroenterology 20, 287-293 (1952)

10. BLOT, H.: Gaz. hebd. med. Paris 3, 720 (1856)

11. BRAUNSTEINER, H.: Myocardinfarkt und latent diabetische Stoffwechsellage. Klin. Wschr. 11, 585 (1965)

12. BREUSCH, F.L.: in Physiol. Chemie Ein Lehrbuch u. Handbuch für Ärzte, Biologen u. Chemiker Hrsg. B. Flaschenträger u. E. Lennartz II/1a 734 (Springer Verlag 1954)

13. BROITMANN, S.A.: Absorption and disposition of d-Xylose in thyreotoxicosis and myxedema. New Engl. J. Med. 270, 333 (1964)

14. BÜRGER, M.: Einführung in die Pathologische Physiologie 316 (Thieme Verlag, Leipzig 1949)

15. CHAMBERS, P.A. and R.T.C. PRATT: Idiosyncrasy to Fructose. Lancet II, 340 (1956)

16. CHAN, B.G. and J.C. CAIN: A rapid quantitative method for routine determination of monosaccharides and oligosaccharides from plants by paper chromatography. J. chromatog. 22, 95 (1966)

17. DURAND, P.: Lathosuria retiopathica in una paziente con diarreca cronica ed ecidozi. Minerva Pediat. 10, 706 (1958)

18. EASTHAM, M.: Biochem. J. 45, XIII (1949) (zit. nach Werle, E. u. H. Schievelbein: in Physiologische Chemie, Hrsg. B. Flaschenträger u. E. Lehnartz II/2b 103 (1957)

19. EBERL, R.: Die Zuckerausscheidung beim Gesunden und

Kranken unter dem Einfluß oraler Zuckerbelastung liss. (1961)

20. ELMER, A.W., KRASOWSKA, M. and L. PTASZEL: Sucrosuria. A rare metabolic error. Acta med. scand. 101, 596 (1939)

21. ENGLE, R.L. jr. and WALLIS, L.A.: Multiple myeloma and the adult Fanconi Syndrome. I Report of a case with crystallike deposits in the tumor cells and in the epithelial cells of the kidney. Amer. J.Med. 22, 5 (1957)

22. FANCONI, G.: Mit Melliturie einhergehende Stoffwechselstörungen. Lehrb. der Padiatrie von Fanconi/ Wallgren 213 ff Schwabe u. Co Verlag Basel/ Stuttgart (1967)

23. FISHBERG, E.H. and L. FRIEDFELD: Excretion of Xylose as an index of damaged renal function. J. clin. Invest. 11, 501 - 512 (1932)

24. FOURMAN, L.R.: Absorption of Xylose in steatorrhoe. Clin. Sci. 6, 289 - 294 (1948)

25. FEHNER, H.U. u. T. WEGM NN: Zur Frage der Hyperglykämie und Glukosurie beim frischen Herzinfarkt. Schw. Med. Wschr. 45, 1592 (1963)

26. FRIEDLANDER, K.: Stoffwechseluntersuchungen bei kindlicher Lebercirrhose. Jb. Kinderheilk. 120, 292 (1928)

27. FROESCH, E.R., PRADER, A., LABHART, A., STUBER, H.W. u. H.P. WOLF: Die hereditäre Fruktoseintoleranz. Schw. Med. Wschr. 87, 1168 (1957)

28. FROESCH, E.R., PRADER, A. u. A. LABHART: Mod. Probl. Paediat. 4, 520 (1959)

29. FROESCH, E.R., PRADER, A., WOLF, H.P. u. A. LABHART. Helv. paediat. Acta 14, 99 (1959)

30. GITZELMANN, R.: Deficiency of Erythrocyte Galactocinase in a patient with Galactose Diabetes. Lancet 2, 670 (1965)

31. GRÜTTNER, R.: Die Diagnose der Coeliakie. Dtsch. med. Wschr. 21, 957 (1965)

32. HAAS, H.J. u. A. SEELIGER: Dünnschichtchromatographie von Zuckerphenylosazonen. J. Chromatog. 13, 573 (1964)

33. HADORN, B.: Angeborene Glukose-Galaktose-Malabsorption. Schw. Med. Wschr. 96, 964 (1966)

34. HARDING, V.J. and van NOSTRAND, F.H.: Variations in blood and urinary sugar after the ingestion of galactose. J.biol.chem. 85, 765 (1936)

35. HARRISON, H.E.: Amino-aciduria, hypophosphatemia, and rickets in lead poisoning. Amer. J. Dis. Childh. 89, 159 (1955)

36. HARWELL, S.O.: The isolation of l'arabitol from pentosuric urine. J. BIOL. Chem. 230, 1051 (1958)

37. HELMER, O.M. and P.J. FONTS: Gastrointestinal studies VII Excretion of Xylose in pernicious anemia. J. clin. Invest. 16, 343 - 349 (1937)

38. HOENIGER, E.: Über die ephimere traumatische Glukosurie bei Neugeborenen. Dtsch. med. Wschr. 500 (1911)

39. HOFMEISTER, F.: Hungerdiabetes. Naunyn-Schmiedebergs

Arch. exp. Path. Pharm. 26, 371 (1890);

40. HORROCKS, R.H. and G.B. MANNING: Partition chromatographie on paper. Identification of reducing substances in urine. Lancet 1, 1042 (1949)

41. ISAAC, S.: Die Zuckerkrankheit. 42 (Berlin 1928)

42. JACIN, H. a. A.P. MISHKIN: Separation of carbohydrates on borate-impregnated silica gel G plates. J. Chromatog. 18, 170 (1965)

43. KAHN, W.: Über die Toleranzgrenze für Traubenzucker im Kindesalter. Jb. für Kinderheilk. 94, 15 (1926)

44. KAISER, H. u. G. MASERA: Zur dünnschichtchromatographischen Trennung einiger einfacher, klinisch wichtiger Zucker. Schw. Med. Wschr. 1, 159 (1964)

45. KLOCKER, G.: Biochem. Biophys. Acta 20, 262 (1956)

46. KIRCHNER, J.G., MILLER, J.M. a. G.J. KELLER: Separation and Identification of some Terpenes by a New Chromatographie Technique. Analyt. Chem. 23, 420 (1951)

47. KRAUER, H.: Stoffwechseluntersuchungen bei kindlicher Lebercirrhose. Jb. Kinderheilk. 120, 292 (1928)

48. LASKER, M.: The question of arabinosuria. With a sheme for identifying reducing substances in urine. J. Clin. Path. 20, 485 (1950)

49. LEHMANN, C.G.: Lehrb. der Physiol. Chemie. 270 Leipzig (1850)

50. LEUTHARDT, F.: Weitere Produkte des Kohlenhydratstoffwechsels. Lehrb. der Physiol. Chemie 320 (1961)

51. LINNEWEH, F. u. W. BARTHELMAI: Angeborene Glukose und

Galaktose Malabsorption. Klin. Wschr. 43, 405 (1965)

52. LINNEWEH, F.: Unverträglichkeit von Nahrungsmitteln und Zuckern. Klin. Wschr. 1, 2 (1965)

53. LINNEWEH, F.: Erbliche Stoffwechselkrankheiten. Lehrb. der Kinderheilk. FEER, E. 164 Fischer Verlag Stuttgart (1966)

54. MATTHEWS, W.B. and M.J.H. SMITH: Ribosuria in muscular dystrophy. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 16, 184 (1953)

55. MAYERHOFEN, E.: Der Harn des Säuglings. Ergebn. inn. Med. u. Kinderheilk. 12, 553 (1913)

56. MIESCHER, G.: Zwei Fälle von kongenitaler familiärer Acanthosis nigricans kombiniert mit Diabetes mellitus. Dermat. Zschr. Berlin 32, 276 (1921)

57. MONASTERIO, G.: Histologischer und pathologischer Beitrag zur Pathogenese des Diabetes renalis. Klin. Wschr. 15, 538 (1939)

58. MONCRIEFF, A. u. R.H. WILKINSON: Acta paediat. Uppsala 43 Suppl. 100; 495 (1954)

59. MORITZ, F.: Dtsch. Arch. klin. Med. 46, 217 (1890)

60. v. NOORDEN, C.: Die Zuckerkrankheit. 12 Berlin (1928)

61. NOTHMANN, H.: Beitrag zur Zuckerausscheidung im Säuglingsalter. Zschr. Kinderheilk. 2, 503 (1911)

62. OBERDISSE, E.K. u. W. TÖNIS: Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. N.F. 4, 75 (1953)

63. OGILVIE, R.F.: Experimental glycosuria. Its production, prevention and alleviation. Vitamins and Hormones

10, 183 (1952)

64. MARTRIDGE, S.M. and R.G. WESTALL: Filter-paper partition chromatography of sugars. Biochem. J. 42, 238 (1948)

65. PASTUSKA, G. u. H. TRINKS: Privatmitteilung (1961)

66. PASTUSKA, G.: Z. analyt. Chem. 179, 427 (1961)

67. PERHOFF, G.T. and F.H. TYLOR: Studies in disorders of muscle XI. The problem of pentosuria in progressive muscular dystrophy. Metabolism 5, 563 (1956)

68. PETERS, J.P. and von SLYKE, D.D.: Quantitative clinical chemistry. Interpretation Vol. 1 Baillère 334

69. PFEIFFER, E.F.: Anerkannte diabetogene Hormone und Zuckerkrankheit des Menschen. Dtsch. Med. Wschr. 19, 855 (1965)

70. PENSCHLER, H.: Die obere Normgrenze der Glukosekonzentration im Urin Gesunder. Dtsch. Med. Wschr. 2, 1351 (1965)

71. NEUBI, W.: Examen histologique du rein par ponction-biopsie dans un cas de diabète rénal. Schweiz. med. Wschr. Beiheft zu 2, 91 (1954)

72. ROYER, P. et A. PRAYER: Les insuffisances congénitales du tubule rénal chez l'enfant. Clinique et thérapeutique 16e congrès des pédiatres de langue francaise, Paris 2-4 juillet 1957.

73. NEUSS, A. v.: Über alimentäre Saccharosurie bei darmkranken Säuglingen. Wien. klin. Wschr. 23, 123 (1910)

74. PIETSCHEL, H.: Inanitation und Zuckerausscheidung im Säuglingsalter. Zschr. Kinderheilk. 7, 282 (1913)

75. RINK, M. u. S. HERMANN: Trennung im Harn vorkommender Zucker mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie. J. Chromatog. 9, 374 (1964)

76. ROBBERS, H. u. K. RÜMELIN: Verlauf und Prognose des renalen Diabetes. Dtsch. Arch. klin. Med. 200, 398 (1953)

77. ROE u. RICE zit. in Zschr. für Kinderheilk. 97, 75 (1966)

78. SANSUM, W.D. and R.T. WOODYATT: zit. von PETERS u. von SLYKE Quantitative clinical chemistry. Interpretations Vol. 1 Baillière 189 Tyndelland Cox, London (1946)

79. SALKOWSKI, E. u. M. JASTROWITZ: Über eine bisher nicht bekannte Zuckerart im Harn. Zbl. med. Wiss. 337 (1892)

80. SCHWEIGER, A.: Trennung einfacher Zucker auf Cellulose-Schichten. J. Chromatog. 9, 374 (1964)

81. STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie. Pharmazie 11, 633 (1956)

82. STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie. Chem. Ztg. 82, 323 (1958)

83. STAHL, E. u. U. KALTENBACH: Dünnschichtchromatographie. Spurenanalyse von Zuckergemischen auf Kieselgur G-Schichten. J. Chromatog. 5, 351 (1961)

84. STAVE, U.: Über Mechanismus und klinische Bedeutung der renalen Aminosäuren-Ausscheidung. Klin. Wschr. 17, 860 (1957)

85. STEINITZ, H., STEINITZ, K. u. O. MIZRACHI. Essentielle Fruktosurie. Schweiz. Med. Wschr. 21, 756 (1963)

86. TONSTER, O.: The isolation of l'arabitol from pentosuric urine. J. Biol. Chem. 230, 1031 (1958)

87. TSWETT, M.S.: Ber. Dtsch. bot. Ges. 24, 234, 361, 384 (1906)

88. UEXKÜLL, U. von und H. WAGNER: Der Galaktosämietest als Leberfunktionsprobe. Münch. med. Wschr. 105, 1593 (1963)

89. VOMHOF, D.W. and T.C. TUCKER: The seperation of simple sugars by cellulose thin-layer chromatography. J. Chromatog. 17, 841 (1953)

90. WALDI, D.: Dünnschichtchromatographie einiger Zucker und Zuckeralkohole. J. Chromatog. 18, 417 (1965)

91. WEICHER, H., SCHÖNTHAL, H. u. H. RENSCHLER : Klin. Wschr. 41, 201 (1963)

92. WOLFROM, D.W., de LEDERKREMER, R.M. and G. SCHWAB: Quantitative thin-layer chromatography of sugars on microcrystalline cellulose. J. Chromatog. 22, 474 (1966)

93. WOOLF, H. and G.H. APTHORP: Investigation of the sugar content of urine from normal subjects and patients with renal and hepatic disease by paper chromatography. J. clin. Path. 10, 84 (1957)

94. ZIMMER, K.: Lävulose im Harn eines Diabetikers. Dtsch. med. Wschr. 329 (1876)

Herrn Professor Dr. med. H. Bickel möchte ich für seine Anregung zu dieser Arbeit sowie für die zahlreichen Hinweise und Ratschläge ergebenst danken.

Lebenslauf

Am 27.10.1940 wurde ich, Brigitte Schwindt, in Siegen als Tochter des Hüttendirektors Dipl. Ing. Kurt Schwindt und seiner Frau Liselotte, geb. Moeser, geboren.
Die Grundschule besuchte ich in Herdorf/Sieg. Am Staatl. Neuspr. Gymnasium in Betzdorf/Sieg legte ich am 21.2.1961 das Abitur ab.
In Marburg, wo ich das Medizinstudium aufnahm, bestand ich am 15.3.1967 das Staatsexamen. Meine weiteren Studienorte waren Wien und Heidelberg.
Seit 1.7.1967 bin ich als Medizinalassistentin am Diakonie-Krankenhaus in Wehrda tätig.

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Herren Professoren:
Berendes, Bickel, Buchholz, Exner, Gedigk, Hamm, Jacob, Linneweh, Mann, Martini, du Mesnil de Rochemont, Rohen, Siegert, Schmid, Schleyer, Schwaiger, Straub
in Wien:
Asperger, Böck, Brücke, Fuchsig, Hoff, Jesserer, Kuscko, Novotny, Obiditsch - Mayer
in Heidelberg:
Bach, Haas, Hamel, Mueller, Paeslack, Plügge, Vollmer, Zander.